

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**ANABELLA MIRA**

**FIROCOXIB (PREVICOX®) NO TRATAMENTO DA SÍNDROME DA  
RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA EM CADELAS COM PIOMETRA**

CURITIBA  
2010

ANABELLA MIRA

**FIROCOXIB (PREVICOX®) NO TRATAMENTO DA SÍNDROME DA  
RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA EM CADELAS COM PIOMETRA**

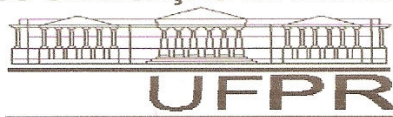
Dissertação apresentada ao  
Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias da  
Universidade Federal do Paraná  
(Setor de Ciências Agrárias),  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre.

**Orientador:** Professor Doutor  
Antonio Felipe Paulino de  
Figueiredo Wouk.

CURITIBA

2010

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada **“FIROCOXIB NO TRATAMENTO DA SÍNDROME DA RESPOSTA INFLAMATÓRIA SISTÊMICA EM CADELAS COM PIOMETRA”** apresentada pela Mestranda ANABELLA MIRA declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Ciências Veterinárias, na Área de Concentração em Ciências Veterinárias.

Curitiba, 26 de janeiro de 2010.

Professor Dr. Antonio Felipe P. de Figueiredo Wouk  
Presidente/Orientador

Professor Dr. Peterson Triches Dornbusch  
Membro

Professora Dra. Denise Tabacchi Fantoni  
Membro

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por sempre dispor de plenas condições, físicas e mentais, para a realização de todos os meus projetos.

À minha família que sempre me cercou de tanto amor e pelo incondicional apoio em todas as etapas de minha vida: minha amada mãe Sonia, maravilhosas irmãs Izabella e Ana Paula, querida vó Janda e minha segunda mãe, tia Rica.

Ao meu amor, Ciro, pelo companheirismo.

Às amigas sempre presentes, mesmo quando distantes: Amanda, Clau, Glê, Márcia, Lu, Mi, Sol, Cris, Márcia.

Aos queridos amigos do Laboratório de Patologia Clínica: Lia, Nina, Kemy, Olair, professora Rosângela.

Aos residentes (Fernanda, Jair), professores (Vilani, Fabiano, Rogério, Tilde, Robes) e funcionários do HV-UFPR (Luíza, Ana, Vanderlina, Fernando, Meri, Simone), por me avisarem dos casos clínicos.

Aos amigos do mestrado (André, Ronald, Mariana, Marianna), por tornarem esses dois anos mais interessantes.

Aos colegas de diversas clínicas e hospitais veterinários (Paulo, Julio, Humberto, Evelyn), por me ajudarem com os casos clínicos.

Ao professor Felipe Caron, pela preciosa ajuda com a Microbiologia e pelo empréstimo do laboratório.

Ao querido professor Felipe Wouk, pelos conselhos, ensinamentos e experiência de vida repassada. Sinto-me honrada e orgulhosa por sua orientação.

A todos os animais, por fazerem tudo isso fazer sentido. Em especial, à Naomy, minha cadelinha querida.

## RESUMO

A piometra é uma afecção de grande importância na clínica médica e cirúrgica de animais de companhia, particularmente em cadelas, e pode ocasionar graves efeitos deletérios, sobretudo quando associada à Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS). Diversos parâmetros laboratoriais têm sido pesquisados na tentativa de encontrar um marcador ideal de sepse (SRIS na presença de infecção), como a proteína C reativa (PCR). Em cães, níveis elevados dessa proteína geralmente estão correlacionados à extensão e atividade da doença, bem como valores sucessivamente decrescentes indicam boa resposta à terapêutica empregada. O uso de antiinflamatórios nesses pacientes pode reduzir os danos ocasionados por uma reação inflamatória exacerbada, poupando o organismo dos efeitos deletérios de tal manifestação. O antiinflamatório não-esteroidal firocoxib (Previcox®) é bastante utilizado para tratamento da osteoartrite canina, mas não há estudos relacionando seu uso em cães sépticos. Esse projeto teve como objetivos avaliar os efeitos do firocoxib em cadelas que estão em sepse devido à piometra, por meio da avaliação da proteína C reativa e outros parâmetros laboratoriais. Os resultados obtidos indicam um efeito benéfico do uso do antiinflamatório em pacientes com piometra e em sepse.

**Palavras-chave:** antiinflamatório não-esteroidal, cicloxigenase, sepse, complexo hiperplasia endometrial cística/piometra

## **ABSTRACT**

Pyometra is a disease of great importance in clinical and surgical care of pets, particularly dogs, and can cause serious deleterious effects, especially when associated with inflammatory response syndrome (SIRS). Several laboratory parameters have been investigated in an attempt to find an ideal marker of sepsis (SIRS in the presence of infection), as C-reactive protein (CRP). In dogs, high levels of this protein generally correlate to the extent and disease activity, and successively decreasing values indicate good response to therapy employed. The anti-inflammatory drugs in these patients can reduce the damage caused by an exaggerated inflammatory response, sparing the body from the deleterious effects of such an event. The NSAID firocoxib (Previcox ®) is widely used for treatment of osteoarthritis in dogs, but there are no studies linking its use in septic dogs. This project aimed to evaluate the effects of firocoxib in bitches that are in sepsis due to pyometra, through the evaluation of C-reactive protein and other laboratory parameters. The results indicate a beneficial effect of anti-inflammatory use in patients with pyometra and in sepsis.

**Keywords:** cyclooxygenase, cystic endometrial hyperplasia/ pyometra complex, nonsteroid anti-inflammatory drugs, sepsis

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
1.1. OBJETIVO GERAL .....	2
1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	3
1.3. REFERÊNCIAS .....	3
<b>2. CAPÍTULO 1: Revisão de Literatura: PIOMETRA EM CÃES, SRIS, SEPSE E ANTIINFLAMATÓRIOS .....</b>	<b>5</b>
RESUMO .....	5
INTRODUÇÃO .....	6
DESENVOLVIMENTO .....	7
<i>Piometra</i> .....	7
<i>Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica e Sepses</i> .....	13
<i>Antiinflamatórios Esteroidais e Não-Esteroidais</i> .....	16
<i>Terapia Antiinflamatória na SRIS/Sepses</i> .....	23
<i>Outras Terapias</i> .....	26
CONCLUSÃO .....	27
REFERÊNCIAS .....	29
<b>3. CAPÍTULO 2: Revisão de Literatura: DOSAGEM DE PROTEÍNA C REATIVA EM CÃES .....</b>	<b>35</b>
RESUMO .....	35
INTRODUÇÃO .....	36
DESENVOLVIMENTO .....	37
<i>Inflamação e Resposta de Fase Aguda</i> .....	37



<i>Principais Proteínas de Fase Aguda em Cães e Gatos</i> .....	38
<i>Histórico</i> .....	41
<i>Estrutura e Mecanismo de Ação</i> .....	42
<i>Metodologias Disponíveis</i> .....	46
<i>Interpretação</i> .....	47
<i>Aplicações Clínicas em Humanos</i> .....	50
<i>Aplicações Clínicas em Cães</i> .....	55
CONCLUSÃO .....	64
REFERÊNCIAS .....	65
<b>4. CAPÍTULO 3: Apresentação de Resultados: PROTEÍNA C REATIVA E OUTROS PARÂMETROS LABORATORIAIS EM CADELAS SAUDÁVEIS E COM PIOMETRA ASSOCIADA À SRIS/SEPSE</b> .....	<b>72</b>
RESUMO .....	72
INTRODUÇÃO .....	73
MATERIAL E MÉTODOS.....	74
RESULTADOS .....	78
DISCUSSÃO .....	86
CONCLUSÃO .....	93
REFERÊNCIAS .....	94
<b>5. CAPÍTULO 4: Apresentação de Resultados: PROTEÍNA C REATIVA E OUTROS PARÂMETROS LABORATORIAIS EM CADELAS COM PIOMETRA ASSOCIADA À SRIS/SEPSE ANTES E APÓS ADMINISTRAÇÃO DE FIROCOXIB (PREVICOX®)</b> .....	<b>97</b>
RESUMO .....	97
INTRODUÇÃO .....	99

MATERIAL E MÉTODOS .....	102
RESULTADOS .....	105
DISCUSSÃO .....	108
CONCLUSÃO .....	114
REFERÊNCIAS .....	115
<b>6. CAPÍTULO 5: Apresentação de Resultados: PROTEÍNA C REATIVA E OUTROS PARÂMETROS LABORATORIAIS EM CADELAS SAUDÁVEIS ANTES E APÓS ADMINISTRAÇÃO DE FIROCOXIB (PREVICOX®).....</b>	<b>119</b>
RESUMO .....	119
INTRODUÇÃO .....	120
MATERIAL E MÉTODOS .....	121
RESULTADOS .....	124
DISCUSSÃO .....	126
CONCLUSÃO .....	128
REFERÊNCIAS .....	129
<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>130</b>
<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>132</b>
ANEXO 1 – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UFPR .....	132
ANEXO 2 – CÁLCULO VOLUMÉTRICO A + B + C .....	133

## 1. INTRODUÇÃO

A piometra é uma afecção de grande importância na clínica médica e cirúrgica de animais de companhia, particularmente em cadelas, e caracteriza-se pelo acúmulo de conteúdo mucopurulento ou sanguinolento no interior do útero (Hedlund, 2005). Essa doença pode ocasionar graves efeitos deletérios, relacionados principalmente à insuficiente perfusão tecidual e à queda da pressão arterial. Sobretudo quando associada à Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS), essa doença exige uma abordagem rápida e correta, pois eventualmente pode culminar em falência múltipla de órgãos e óbito (Hagman et al., 2006; Fransson, 2003).

Diversos parâmetros laboratoriais têm sido pesquisados na tentativa de encontrar um marcador ideal de sepse, que é a SRIS na presença de infecção. A proteína C reativa (PCR) é um exemplo. Ela é uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado em situações de lesão tissular ocasionada pelos mais diversos fatores. Em cães, níveis elevados dessa proteína geralmente estão correlacionados à extensão e atividade da doença, bem como valores sucessivamente decrescentes indicam boa resposta à terapêutica empregada (Dabrowski et al., 2007).

O uso de anti-inflamatórios nesses pacientes pode reduzir os danos ocasionados por uma reação inflamatória exacerbada, poupando o organismo dos efeitos deletérios de tal manifestação (Barton, 2005). O anti-inflamatório não-esteroidal firocoxib apresenta mecanismo de ação baseado na inibição da ciclooxygenase-2, sendo bastante utilizado para tratamento da osteoartrite canina (Ryan et al., 2006; McCann et al., 2004), mas não há estudos relacionando seu uso em cães sépticos.

Esse projeto teve como objetivos avaliar os efeitos do firocoxib em cadelas que estão em sepse devido à piometra, por meio da dosagem de parâmetros

laboratoriais. Os mesmos parâmetros avaliados em cadelas doentes foram dosados também em cadelas saudáveis, buscando verificar uma possível influência do anti-inflamatório sobre esses testes laboratoriais. A PCR foi o parâmetro mais destacado nessa pesquisa, devido ao seu precioso valor em quadros sépticos.

De acordo com as normas internas para elaboração das dissertações, essa pesquisa foi organizada em capítulos, cada qual disposto na forma de um artigo, que por sua vez segue as normas exigidas pela revista da instituição. Esse estudo foi dividido em cinco capítulos, sendo os dois primeiros revisões de literatura e os outros três apresentações dos resultados obtidos. No primeiro capítulo, foi abordado o tema piometra em cães, correlacionando-o à SRIS/seps e às terapias anti-inflamatórias atualmente em pesquisa. O segundo capítulo faz uma revisão detalhada sobre a proteína C reativa, desde seu histórico, estrutura química, metodologias, até seus principais usos na medicina e na medicina veterinária. O terceiro capítulo enfoca as principais diferenças entre os animais com piometra e os saudáveis, por meio da dosagem de diversos parâmetros laboratoriais. O quarto capítulo mostra as alterações laboratoriais ocorridas após a administração do firocoxib em cadelas com piometra; semelhantemente, o quinto capítulo também faz essa comparação, mas dessa vez em animais saudáveis.

### 1.1. OBJETIVO GERAL

Esta pesquisa teve como principal objetivo verificar a eficácia do anti-inflamatório não-esteroidal firocoxib na evolução da síndrome de resposta inflamatória sistêmica de cadelas com piometra por meio de dosagem de proteína C reativa.

## 1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar os microorganismos responsáveis pela piometra.
- Comparar os valores de PCR e outros parâmetros em cadelas com piometra e saudáveis.
- Definir valores de referência para a PCR em cadelas saudáveis
- Verificar alterações da PCR e outros parâmetros após a administração do anti-inflamatório firocoxib (Previcox®), tanto em cadelas com piometra como nas saudáveis.

## 1.3. REFERÊNCIAS

BARTON, L. Sepsis and the Systemic Inflammatory Response Syndrome. In: Fossum, T.W. **Small Animal Surgery**. 3.ed. St.Louis: Mosby, p.124, 2007.

DABROWSKI, R.; WAWRON, W.; KOSTRO, K. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. **Theriogenology**. v.67, n.2, p.321-327, 2007.

FRANSSON, B.A. **Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra – The Response to Bacterial Uterine Infection**. 2003. Uppsala, 49p. Doctoral thesis – Department of Small Animal Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences.

HAGMAN, R.; KINDAHL, H.; LAGERSTEDT, A-S. Pyometra in Bitches Induces Elevated Plasma Endotoxin and Prostaglandin F2 $\alpha$  Metabolite Levels. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v.47, n.1, p.55-68, 2006.

HEDLUND, C.S. Cirurgia dos Sistemas Reprodutivo e Genital *In*: Fossum, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 2.ed. São Paulo: Roca, p.638-644, 2005.

McCANN, M.E.; ANDERSEN, D.R.; ZHANG, D.; BRIDEAU, C.; BLACK, W.C.; HANSON, P.D.; HICKEY, G.J. In vivo effects and in vivo efficacy of a novel cyclooxygenase-2 inhibitor in dogs with experimentally induced synovitis. **American Journal of Veterinary Research**. April, n.65, v.4, p.503-512, 2004.

RYAN, W.G.; MOLDAVE, K.; CARITHERS, D. Clinical effectiveness and safety of a new NSAID, firocoxib: a 1,000 dog study. **Veterinary Therapeutics**. Summer, n.7, v.2, p.119-126, 2006.

## 2. CAPÍTULO 1: Revisão de Literatura

### PIOMETRA EM CÃES, SRIS, SEPSE E ANTI-INFLAMATÓRIOS

*(Pyometra in Dogs, SIRS, Sepsis and Antiinflammatory Drugs)*

**RESUMO** – A piometra caracteriza-se pelo acúmulo de conteúdo mucopurulento ou sanguinolento no interior do útero e é comum sua ocorrência no período posterior ao estro (“cio”), o diestro. As cadelas afetadas podem apresentar apatia, perda de peso, vômito, abdome distendido e secreção vaginal. O tratamento de escolha é o cirúrgico, removendo-se útero e ovários utilizando a técnica de ovariosalpingohisterectomia. Os microorganismos presentes no exsudato uterino, seus subprodutos e seus componentes estruturais estimulam a liberação de mediadores inflamatórios, desencadeando no organismo uma série de alterações orgânicas extremamente danosas, relacionadas principalmente à insuficiente perfusão tecidual e à queda da pressão arterial. Tais alterações culminam muitas vezes em choque séptico, falência múltipla orgânica e morte. O uso de anti-inflamatórios nesses pacientes pode evitar ou amenizar a reação inflamatória exacerbada, poupando o organismo dos efeitos deletérios de tal manifestação.

**Palavras-chave** – cicloxigenase, complexo hiperplasia endometrial cística/piometra, prostaglandinas

**ABSTRACT** – Pyometra is characterized by the accumulation of mucopurulent or bloody content in the uterus and its common occurrence in the post-estrus, his master. Affected bitches may show apathy, weight loss, vomiting, abdominal distension and vaginal discharge. The treatment of choice is surgery, removing the

uterus and ovaries using the technique of ovariosalpingohysterectomy. The microorganisms present in the uterine exudate, its products and its structural components stimulate the release of inflammatory mediators in the body triggering a series of extremely harmful organic changes, mainly related to inadequate tissue perfusion and blood pressure drop. Such changes often culminate in septic shock, multiple organ failure and death. The anti-inflammatory drugs in these patients can avoid or mitigate the exaggerated inflammatory response, sparing the body from the deleterious effects of such an event.

**key words** – cyclooxygenase, cystic endometrial hyperplasia/ pyometra complex, prostaglandins

## INTRODUÇÃO

A piometra é uma doença de ocorrência bastante comum na rotina clínica de pequenos animais, sobretudo em cadelas. Algumas vezes, a grande quantidade de bactérias e seus subprodutos podem levar ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória exacerbada, caracterizada por diversas alterações orgânicas, denominada síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) (Fransson, 2003). O diagnóstico e o tratamento precoces da piometra tornam-se, portanto, imprescindíveis na prevenção do desenvolvimento dessa síndrome, que pode evoluir para choque séptico, falência orgânica e óbito (Pretzer, 2008). Antibióticos, fluidos e anti-inflamatórios apresentam papel importante no tratamento dessa doença (Verstegen et al., 2008).

Esse artigo objetiva fazer uma revisão de literatura sobre a piometra associada à síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepsis em cães, além de esclarecer sobre os benefícios do uso de anti-inflamatórios nesses casos.



## DESENVOLVIMENTO

### *Piometra*

A piometra é uma doença mediada por hormônios que ocorre durante o diestro, podendo ser diagnosticada imediatamente após o término do estro ou até 14 semanas depois. Durante esse período do ciclo estral, o hormônio predominante é a progesterona, produzida pelos corpos lúteos dos ovários, que prepara o útero para uma possível gestação. Ocorre desenvolvimento endometrial, secreção glandular, diminuição da atividade do miométrio e inibição da atividade leucocitária intra-uterina. Todas essas ações proporcionam um ambiente ideal para a proliferação bacteriana. Acredita-se que a presença de bactérias no útero durante o proestro e o estro seja um fenômeno normal, através de contaminação ascendente. No entanto, sua proliferação excessiva parece estar relacionada a fatores predisponentes, como a administração exógena de estrogênios durante o proestro ou estro (efeito contraceptivo) ou a exposição crônica à progesterona (cadelas idosas) (Taylor, 2004). Os estrógenos aumentam a quantidade de receptores uterinos de progesterona. A progesterona, por sua vez, faz com que o tecido glandular uterino fique cístico, edemaciado, espessado e infiltrado por linfócitos e plasmócitos, eventos que caracterizam a hiperplasia endometrial cística (HEC). Na HEC, acumula-se fluido nas glândulas endometriais e no lúmen uterino, com o agravante de que a drenagem está prejudicada pela supressão da atividade contrátil do miométrio. A HEC, portanto, também parece ser um fator predisponente. Algumas vezes tumores uterinos também levam ao acúmulo de fluidos pela obstrução do

fluxo das secreções uterinas, o que também pode favorecer o surgimento de piometra (Hedlund, 2005; Tilley e Smith, 2003).

Cadelas a partir de 4 a 6 anos ou que receberam estrógenos apresentam maior predisposição à doença. Alguns estudos encontram maior incidência em fêmeas nulíparas, enquanto outros relacionam a doença às múltiparas. Não há correlação com pseudogestação (Smith, 2006; Tilley e Smith, 2003).

Durante a piometra, a cérvix uterina pode se apresentar fechada ou aberta. Os casos mais graves, na maioria das vezes, pertencem à primeira classificação, pois a ausência de secreção vaginal impede que os proprietários percebam a doença precocemente, possibilitando a instalação de um quadro de sepse e toxemia (Pretzer, 2008; Taylor, 2004).

Os sinais clínicos relatados pelo proprietário incluem apatia, anorexia, polidipsia, poliúria, perda de peso, distensão abdominal, vômito e diarreia (Taylor, 2004). Ao exame físico usualmente verifica-se desidratação, febre, normotermia ou hipotermia, aumento uterino palpável ou não, secreção vaginal mucopurulenta ou sanguinolenta (cérvix aberta). Ruptura uterina ou extravasamento do conteúdo causarão dor abdominal, compatível com peritonite (Feldman, 2004).

A poliúria (débito urinário diário superior a 50 mL/Kg) observada em muitos casos de piometra pode ser decorrente da deposição de endotoxina da *Escherichia coli* nos túbulos coletores, que perdem sua capacidade de reabsorção de água, sódio e cloreto, resultando na perda da hipertonicidade medular renal. Histopatologicamente, a ocorrência de infiltrado linfoplasmocitário intersticial, esclerose glomerular e atrofia tubular poderiam explicar essa perda de função. A polidipsia (consumo hídrico diário superior a 100 mL/Kg) é compensatória à perda de água (Heiene et al., 2007; Taylor, 2004). Maddens et al. (2010) mensuraram biomarcadores urinários de função renal

em 25 cadelas com piometra causada por *Escherichia coli* e concluíram que essa bactéria afeta o néfron tanto em sua porção glomerular quanto na tubular proximal. No entanto, essa disfunção parece ser transitória na maioria dos cães, já que os valores dos biomarcadores retornaram ao normal seis meses após a intervenção cirúrgica.

O leucograma pode revelar neutrofilia, nos casos mais severos com desvio à esquerda degenerativo e presença de neutrófilos tóxicos (Feldman, 2004). A leucopenia pode significar infecção severa, sepse ou seqüestro uterino de neutrófilos (Hedlund, 2005; Tilley e Smith, 2003).

Na série vermelha, uma anemia normocítica normocrômica arregenerativa pode se manifestar devido ao caráter inflamatório crônico da doença que causa supressão da eritropoiese; a sepse e a toxemia também podem causar supressão da medula óssea. A perda de hemácias no lúmen uterino e hemodiluição são outras causas importantes de anemia (Feldman, 2004; Faldyna et al., 2001).

A bioquímica sérica pode apresentar diversas alterações, como hiperproteinemia e hiperglobulinemia (devido à desidratação), aumento de enzimas hepáticas (pela sepse ou hipóxia celular secundária à desidratação), e aumento da creatinina (pela lesão renal secundária à endotoxemia ou desidratação) (Feldman, 2004).

A proteína C reativa, que se manifesta durante as respostas de fase aguda, apresenta-se elevada em cadelas com piometra (Nakamura et al., 2008; Dabrowski et al., 2007; Fransson et al., 2007), mas não é capaz de diferenciar esse quadro da hiperplasia endometrial cística, a não ser quando associada com a contagem leucocitária (neutrófilos), quando então apresenta alta sensibilidade para o diagnóstico da piometra (Fransson et al., 2004). De acordo com Fransson et al. (2007), a PCR é o único marcador inflamatório em cães com piometra relacionado à

morbidade, estimada pelo maior tempo de hospitalização. Ela também está elevada em casos que cursam com a síndrome da resposta inflamatória sistêmica (Fransson et al., 2007).

Já a dosagem de lactato, bastante pesquisada pela medicina intensivista para avaliação da resposta ao tratamento e avaliação prognóstica, ficou elevada em apenas 3% (1/31) das cadelas com piometra em estudo de Hagman et al. (2009).

A urinálise geralmente apresenta isostenúria ou hipostenúria (baixa densidade), mas no início do processo a densidade está aumentada, devido à concentração de urina em resposta à desidratação (Feldman, 2004). A proteinúria é um achado freqüente em cadelas com piometra, sendo importante indicadora de doença glomerular. A glomerulonefrite imunomediada foi bastante associada à piometra, mas recentemente essa informação foi confrontada, uma vez que a deposição glomerular de imunocomplexos acontece também em cadelas idosas e saudáveis. Independente da causa de lesão glomerular, a avaliação da proteinúria merece grande destaque, inclusive durante o pós-operatório, já que, quando severa, já foi associada à ocorrência de falência renal aguda em cadelas com piometra (Heiene et al., 2007).

A hipoglicemia é comum em cadelas com piometra, pois a sepse esgota os depósitos de glicogênio, aumenta a utilização periférica de glicose e reduz a gliconeogênese. Pode ocorrer também hiperglicemia transitória devido à liberação de catecolaminas e glucagon. A hiperglicemia e glicosúria persistentes são resultantes da ação do hormônio do crescimento, cuja produção é induzida pela progesterona, sendo que nesses pacientes, pode ser necessário terapia com insulina mesmo após o tratamento médico e cirúrgico adequados (Hedlund, 2005; Tilley e Smith, 2003).

As endotoxinas são porções de lipopolissacarídeos liberados da parede celular de bactérias gram-negativas sempre que estas morrem ou crescem; pequenas quantidades são continuamente produzidas pela flora intestinal e eliminadas pelo sistema reticuloendotelial. Em cadelas com piometra, a dosagem plasmática de endotoxinas mostra-se aumentada, pois sua liberação na circulação extrapola a capacidade hepática de depuração. A endotoxemia inicia a síntese e a liberação de mediadores inflamatórios, podendo causar leucocitose, vômito, febre, depressão e anorexia. A intensidade desses efeitos, no entanto, varia de acordo com a suscetibilidade do animal, por isso nem sempre é possível correlacionar altos níveis de endotoxinas com a severidade da doença (Hagman et al., 2006).

O quadro de toxemia, acidose e desequilíbrio eletrolítico, pode levar ao aparecimento de arritmias cardíacas. Também podem ocorrer coagulopatias em decorrência de desequilíbrios metabólicos, podendo, em casos graves, ocorrer coagulação intravascular disseminada (Hedlund, 2005; Tilley e Smith, 2003). A sepse é a causa mais comum de distúrbios de coagulação. Ocorre um aumento na relação trombina/plasmina, ocasionando o predomínio de fenômenos trombóticos (Paredes-Aguilera, 2003).

Com relação à microbiologia, a maioria dos estudos aponta a *Escherichia coli* como a principal bactéria causadora de piometra, que possui grande afinidade pelo endométrio e miométrio (Hedlund, 2005; Okano et al., 1998; Fransson et al., 1997), mas estafilococos, estreptococos, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Hemophilus*, *Pasteurella* e *Serratia* também já foram isolados (Taylor, 2004).

Para confirmação diagnóstica, utiliza-se a ultrassonografia, que permite determinar o tamanho do útero, a espessura da parede uterina e a presença de conteúdo uterino (Feldman, 2004). Bigliardi et al. (2004) afirmam ainda que a

ultrassonografia é capaz de classificar alguns tipos histopatológicos de HEC (grupos II e IV da classificação de Dow), e diferenciar entre mucometra, endometrite, piometra hiperplásica e atrófica (parede delgada), que são divisões da classificação histomorfométrica de Bosschere.

A ovariosalpingohisterectomia (OSH) é o tratamento de escolha para a piometra, pois a resolução da sepse só ocorrerá após a remoção do útero enfermo (Hedlund, 2005). O procedimento cirúrgico apresentará maior chance de êxito se associado ao uso de fluidos intravenosos e antibióticos (Lucas et al., 2000). Inibidores da enzima conversora de angiotensina e o rígido controle da pressão arterial podem ser medidas complementares ao tratamento, proporcionando valiosa proteção à função renal (Heiene et al., 2007).

As cadelas em idade reprodutiva (6 meses a 6 anos), sem enfermidades sistêmicas e cujos proprietários não aceitam a esterilização podem ser submetidas ao tratamento com prostaglandinas. A prostaglandina  $F_{2\alpha}$  causa contração do miométrio, expulsando o conteúdo uterino, e inibe a síntese de progesterona (ação luteolítica), que auxilia na abertura da cérvix. As cadelas dentro das especificações supracitadas apresentam boa resposta ao tratamento clínico (Feldman, 2004). Devido aos efeitos das prostaglandinas em outros órgãos (náuseas, vômitos, diarreia, hipertonicidade uterina, alterações cardiovasculares e pulmonares), essas substâncias devem ser utilizadas com cautela, especialmente em cadelas cardiopatas, com afecção pulmonar ou renal e em piometras fechadas, pelo risco de ruptura uterina (Oliveira, 1999). Contraditoriamente, a prostaglandina  $F_{2\alpha}$  está aumentada em cadelas com piometra, tanto no plasma como no endométrio. A síntese endometrial de prostaglandinas é estimulada pela infecção bacteriana no útero, e possivelmente essa reação localizada ocorre previamente ao aumento

sistêmico. A inibição da síntese e liberação de prostaglandinas pode amenizar os sinais causados pela endotoxemia, melhorando o estado clínico de cadelas com piometra (Silva et al., 2009; Hagman et al., 2006).

Devem ser considerados como diagnósticos diferenciais mucometra, hidrometra, vaginite grave, gestação, torção uterina, peritonite, diabetes melito, hiperadrenocorticism, insuficiência renal primária e brucelose (Hedlund, 2005; Tilley e Smith, 2003).

A piometra pode culminar em SRIS/seps, choque séptico e óbito. Em um estudo de Fransson (2007) com 53 cadelas com piometra, 57% delas apresentavam SRIS, que foi reconhecida baseando-se nos parâmetros sugeridos por Hauptman et al. (1997).

### *Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica e Seps*

A presença de bactérias e de seus componentes celulares, associadas aos seus subprodutos no organismo, estimula a liberação de mediadores inflamatórios e anti-inflamatórios. Essa reação, em um primeiro momento, ocorre no local de origem da injúria, mas pode atingir a circulação, ocasionando variados efeitos metabólicos e recebendo o nome de síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS), mas que, nesse caso, por estar associada à uma infecção, recebe o nome de seps. São considerados em seps animais que, associado à SRIS, apresentam evidências histológicas e microbiológicas de infecção ou presença óbvia de algum foco infeccioso (p.ex. abscessos, presença de secreção purulenta) (Gebhardt et al., 2009). Entende-se por seps severa a seps associada à disfunção orgânica, hipotensão e hipoperfusão, podendo ser observados acidose láctica, oligúria e

confusão mental. O choque séptico é definido como a sepse associada à hipotensão não responsiva a medicações e fluidoterapia (Barton, 2007).

Os sinais clínicos da SRIS, disfunção orgânica e choque séptico resultam da ação dos mediadores inflamatórios. Os efeitos cardiovasculares decorrem da vasodilatação periférica, que resulta em redução da resistência vascular sistêmica e disfunção do miocárdio, que por sua vez se manifesta por dilatação ventricular, redução da fração de ejeção, resposta contrátil reduzida à reposição de volume e redução da complacência ventricular esquerda. Os danos ao endotélio vascular ocorrem secundariamente à ativação e adesão exacerbadas de neutrófilos, cursando com aumento da permeabilidade vascular. A lesão de células endoteliais e a liberação de citocinas estimulada pelos neutrófilos e macrófagos levam ao aumento do fator tecidual, que participa da via extrínseca da cascata da coagulação. Isso cria um estado de pró-coagulação, podendo ocorrer depósitos de fibrina na microvasculatura, agravando a hipóxia tecidual, e aumentando o consumo de anticoagulantes naturais (Barton, 2007). O quadro pode evoluir para coagulação intravascular disseminada (CID), uma síndrome caracterizada pela ativação sistêmica da coagulação intravascular e que é sempre secundária a alguma morbidade. O consumo exacerbado dos fatores de coagulação pode levar à sua depleção, ocasionando sangramento difuso, que é geralmente a primeira manifestação percebida, caracterizada por petéquias, equimoses, sangramentos em locais de venopunção, incisão cirúrgica ou lesão traumática (Pintão e Franco, 2001).

Além de alterações na frequência cardíaca, respiratória, temperatura e contagem leucocitária, os animais também podem apresentar confusão mental, apatia, hipotensão, pulso fraco, oligúria, trombocitopenia, hipoalbuminemia, hipoglicemia,



tempo de coagulação aumentado, acidose láctica, creatinina, uréia e enzimas hepáticas aumentadas, hipoxemia (Barton, 2007).

A falência múltipla de órgãos, ou síndrome da disfunção múltipla de órgãos, é uma das mais graves manifestações da progressão da SRIS, caracterizando-se pela disfunção seqüencial de dois ou mais sistemas orgânicos e pela necessidade de intervenção médica para a manutenção da homeostasia. Mesmo casos em que a síndrome não é tão severa podem evoluir para a falência orgânica se ocorrer uma reativação da resposta inflamatória, por menor que seja o estímulo a essa reação. Essa teoria é chamada “two-hit” ou “second-hit”, e exemplifica a infecção no local do cateter como possível reativadora da inflamação (Barton, 2007). Felizmente, a evolução para a falência orgânica em cadelas com piometra não parece ser tão comum nos casos cirurgicamente tratados. Fransson et al. (2007) chegaram à essa conclusão por terem encontrado reduzida taxa de mortalidade em seu estudo com 53 animais (3,8%; 2/53), sendo uma cadela pertencente ao grupo SRIS e outra ao grupo não-SRIS.

Hauptman et al. (1997) adaptaram dados da medicina para definir clinicamente um animal em SRIS, chegando a níveis de 97% de sensibilidade, mas apenas 64% de especificidade. Apesar do risco aumentado de falsos-negativos, esse critério minimiza o risco de casos positivos não serem diagnosticados. Ao menos dois dos seguintes parâmetros devem estar presentes no exame do animal suspeito: 1. frequência cardíaca maior que 120 batimentos por minuto, 2. frequência respiratória maior que 20 movimentos inspiratórios por minuto, 3. temperatura retal menor que 38,1°C ou maior que 39,2°C e 4. leucograma menor que 6000 ou maior que 16000 células/ $\mu$ L ou neutrófilos acima de 3%.

A gravidade das manifestações clínicas da SRIS/sepse dependerá da razão entre os mediadores anti-inflamatórios e pró-inflamatórios, o que poderá desencadear tanto um quadro de imunossupressão (predomínio de mediadores anti-inflamatórios) como a progressão da sepse para sepse severa e choque séptico (predomínio de mediadores pró-inflamatórios), evoluindo para disfunção múltipla dos órgãos e óbito (Barton, 2007).

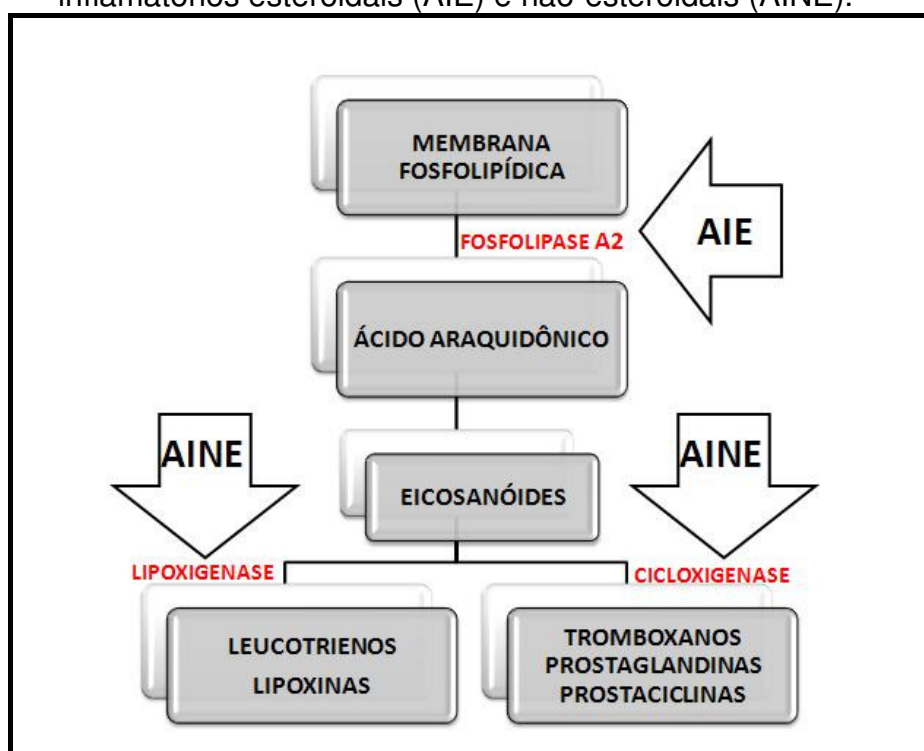
A terapia da sepse tem como princípios identificar e erradicar a infecção, oferecer terapia de suporte para manter a perfusão tecidual e minimizar a disfunção orgânica e controlar a reação inflamatória (Barton, 2007).

#### *Anti-inflamatórios Esteroidais e Não-Esteroidais*

Qualquer agressão que danifique as membranas celulares do organismo resulta na liberação de ácido araquidônico, um ácido graxo formado a partir dos fosfolipídios da membrana celular pela ação das enzimas fosfolipases, essas, desprovidas de efeito inflamatório. Os mediadores derivados dele, através da ação das enzimas cicloxigenase (COX) e lipoxigenase (LOX), são chamados eicosanóides, estes sim, responsáveis pela reação inflamatória. As cicloxigenases originam os prostanóides, que são as prostaglandinas, as prostaciclina e os tromboxanos; as lipoxigenases originam os leucotrienos e as lipoxinas (essas, com efeito anti-inflamatório) (Figura 1). Durante esse processo, as diferentes vias enzimáticas podem formar radicais livres, que também possuem efeito pró-inflamatório. A liberação desses mediadores químicos desencadeia diversos efeitos vasculares e celulares na tentativa de deter o agente agressor, como vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e

migração de leucócitos para o sítio injuriado (Leone et al., 2007; Tasaka, 1999; Junqueira e Carneiro, 1991).

Figura 1 – Metabolismo dos fosfolipídeos e mecanismo de ação dos anti-inflamatórios esteroidais (AIE) e não-esteroidais (AINE).



Os cinco sinais característicos da inflamação são dor, calor, rubor, tumor e perda de função. Promover analgesia é o principal e mais antigo objetivo dos anti-inflamatórios, mas à medida que aumentam os conhecimentos sobre a patofisiologia do processo inflamatório, aumentam também suas aplicações (Luengo, 2005).

O primeiro grupo de anti-inflamatórios a ser descoberto foi o dos salicilatos. Há documentos que provam que em 1534 antes de Cristo os egípcios já conheciam as propriedades antipiréticas, anti-inflamatórias e analgésicas da casca da árvore conhecida por salgueiro branco, o *Salix alba*, de onde mais tarde se isolaria a salicina. Após diversas purificações, chegou-se ao ácido acetilsalicílico (AAS), que

em 1899 começou a ser utilizado na prática médica por diversos profissionais, sendo considerado o primeiro anti-inflamatório descoberto; em 1934 a Bayer patenteou o ácido acetilsalicílico e o chamou de Aspirina® (Braña et al., 2005).

Existem dois grupos de anti-inflamatórios, os não-esteroidais e os esteroidais.

- Anti-inflamatórios não-esteroidais (AINE)

O mecanismo de ação do ácido acetilsalicílico, ou seja, bloqueio da síntese de prostaglandinas foi desvendado por Vane em 1971. Nesse mesmo período já se começavam a investigar também seus efeitos antitrombóticos (Luengo, 2005).

As prostaglandinas (PG), que recebem esse nome por terem sido reconhecidas primeiramente em extratos de próstata, estão envolvidas na regulação de diversas atividades biológicas de praticamente todas as células e tecidos, exercendo efeitos sobre os rins, estômago, órgãos reprodutores, sistema nervoso, musculatura lisa, processos inflamatórios e de coagulação e controle da pressão sanguínea. As PG e seus compostos são divididos em classes organizadas por letras (A a I), que por sua vez podem receber a marcação da letra grega “ $\alpha$ ” e sub-índices que variam de 1 a 3, de acordo com sua estrutura química (exemplo:  $\text{PGF}_{2\alpha}$ ) (Palermo-Neto, 1999). Sua ação biológica é exercida basicamente no local da síntese, pois apresentam curta meia-vida na circulação. Não são estocadas, mas sintetizadas momentos antes de sua liberação, sob diversos estímulos fisiológicos, patológicos e farmacológicos (Palermo-Neto, 1999; Delfino e Mocelin, 1995).

O envolvimento das prostaglandinas em diversos processos patológicos foi um grande estímulo ao desenvolvimento dos AINE, drogas que estão entre as mais prescritas no mundo (Lamano-Carvalho, 2007).

Foi somente em 1978 que Moncada e colaboradores descobriram que o bloqueio da síntese de prostaglandinas se dava por inibição da cicloxigenase (chamada também prostaglandina sintase) (Luengo, 2005).

Na segunda metade do século XX diversos AINE foram desenvolvidos, como a fenilbutazona, os fenamatos (classe à qual pertencem os ácidos mefenâmico e meclofenâmico), a indometacina e o naproxeno (Luengo, 2005).

Em 1991, descobriu-se uma segunda forma da ciclooxigenase (COX), a COX-2. Essas duas isoformas, designadas COX-1 e COX-2, foram chamadas por algum tempo de constitutiva e induzida, respectivamente. Ou seja, a COX-1 seria responsável por diversas funções fisiológicas benéficas, enquanto a COX-2 se manifestaria somente sob certas condições, como em processos inflamatórios (Süleyman et al., 2007). Por isso foram desenvolvidos medicamentos inibidores seletivamente de COX-2, esperando-se reduzir a incidência de efeitos indesejados, principalmente gastrintestinais (Lamano-Carvalho, 2007; Süleyman et al., 2007). Os primeiros fármacos de inibição seletiva de COX-2 surgiram na década de 1980 (meloxicam e nimesulide), sendo também chamados de inibidores preferenciais. Os super seletivos apareceram no final da década de 1990 (Luengo, 2005). No entanto, recentemente foi comprovado que não existe uma divisão tão precisa nas atividades das duas isoformas, sendo que a COX-1 também está envolvida nos processos inflamatórios (sobretudo na hiperalgesia) e a COX-2 se expressa constitutivamente em vários tecidos, interferindo na hemostasia, funções renal, reprodutiva e nervosa, e exercendo atividade citoprotetora na mucosa digestória (Lamano-Carvalho, 2007).

Em 1999 os coxibes tornaram-se disponíveis no mercado, e suas aplicações foram além da analgesia. Atualmente, os inibidores seletivos de COX-2 são uma possibilidade preventiva e terapêutica para alguns tipos de câncer. No entanto, o uso

prolongado de alguns desses AINE foi relacionado a alterações na hemostasia, aumentando o risco de trombose e infarto. Diante disso, a partir de 2004 inúmeros fármacos dessa classe foram retirados do mercado, como o rofecoxibe (Vioxx®) e o valdecoxibe (Bextra®), e outros tantos permaneceram somente com venda controlada, como o celecoxibe (Celebra®) (Lamano-Carvalho, 2007). Na Medicina Veterinária, um exemplo de fármaco desse grupo é o firocoxib, aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) para uso em cães e eqüinos, sendo disponível no Brasil somente para a primeira espécie, sob o nome comercial de Previcox® (Clark, 2006).

Devido à inibição das prostaglandinas, todos os AINE oferecem algum risco de desenvolvimento de lesão renal, porém em diferentes intensidades. Os seletivos para COX-2 são apontados como sendo menos prejudiciais, sobretudo para a mucosa gástrica e rins. Essa informação, obtida a partir de estudos em humanos, não pode ser extrapolada para cães, devido a particularidades anatômicas e fisiológicas dessa espécie em relação ao homem, bem como expressão e função diferenciadas das cicloxigenases. Sendo assim, tanto os seletivos como os não-seletivos devem ser considerados potencialmente nefrotóxicos, sobretudo em períodos de hipoperfusão (Clark, 2004; Stokes e Forrester, 2004; Tasaka, 1999). A prevalência de insuficiência renal induzida pelo uso de AINE é desconhecida, porém geralmente está relacionada com sobredosagem, uso por períodos prolongados ou uso em animais com condições predisponentes à lesão renal, como idade avançada, cardio/nefro/hepatopatias, desidratação e sepse (Clark, 2004). Apesar disso, a maioria dos animais que manifesta falência renal aguda secundária ao uso de AINE apresenta um prognóstico favorável (Stokes e Forrester, 2004).

Estudos recentes têm sugerido a possibilidade da existência de várias outras cicloxigenases, talvez mais cinco a dez isoformas (Süleyman et al., 2007). A possibilidade de existência dessas outras COX poderia explicar o porquê de mesmo medicamentos tão seletivos apresentarem efeitos adversos, o que demonstra que ainda há muitos pontos a serem esclarecidos a respeito do mecanismo de ação desses fármacos e da própria fisiopatologia da inflamação.

Outra forma de ação dos AINE é o bloqueio da lipoxigenase-5 (LOX-5), enzima expressa predominantemente por células de origem mielóide, como neutrófilos, eosinófilos, macrófagos/monócitos e mastócitos. A LOX-5 é responsável pela conversão dos eicosanóides em leucotrienos, substâncias vasoativas e potentes mediadoras da inflamação, relacionadas a processos crônicos como artrite reumatóide, colite ulcerativa e doenças neurodegenerativas. Os leucotrienos reduzem o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular, além de promoverem vasoconstrição na mucosa gástrica, favorecendo o aparecimento de ulcerações. Como broncoconstritores, são 1000 vezes mais potentes que a histamina, manifestando-se de forma importante em reações alérgicas e na asma. Em mamíferos, existem outras duas lipoxigenases, a LOX-12 e a LOX-15, que estão mais relacionadas à síntese das lipoxinas; a LOX-5, no entanto, é a mais importante biologicamente (Leone et al., 2007)

Existem fármacos que inibem seletivamente a LOX-5, porém por diversas razões metabólicas, alguns compostos apresentam um efeito *in vivo* fraco ou mesmo ausente, enquanto outros podem trazer sérios efeitos colaterais, como a formação de metahemoglobina. Por esse motivo, sob o foco dos pesquisadores encontram-se atualmente os anti-inflamatórios com dupla ação, ou seja, inibidores das cicloxigenases e da lipoxigenase-5. Esses medicamentos mantêm as propriedades

anti-inflamatórias apresentadas pelos demais AINE, mas não promovem tantos efeitos deletérios, uma vez que a inibição dos leucotrienos oferece efeito protetor contra os malefícios gerados por esses mediadores; além disso, o bloqueio da LOX-5 não interfere de forma substancial na síntese de lipoxinas, que têm um papel importante na resolução da inflamação. Exemplos desse grupo de fármacos incluem a tepoxalina, a fenidona e anti-inflamatórios não-esteroidais modificados, como derivados do celecoxibe, da indometacina e do fenamato. Suas principais aplicações relacionam-se a doenças como Alzheimer, Parkinson, esclerose múltipla, asma e prevenção e tratamento de alguns tipos de câncer (Leone et al., 2007; Collin et al., 2004).

- Anti-inflamatórios esteroidais (AIE)

A descoberta dos anti-inflamatórios esteroidais está relacionada aos estudos desenvolvidos por Thomas Addison, em 1855, na área de endocrinologia, especialmente com as glândulas supra-renais ou adrenais. Em 1901 Takamine e Aldrich isolaram a adrenalina da medula adrenal, a qual se mostrou ineficaz no tratamento da insuficiência adrenal, o que levou os pesquisadores a concluir que os hormônios indispensáveis à vida eram produzidos pela região cortical da adrenal. A partir de 1949, quando Philip Hench descobriu o potencial anti-inflamatório da cortisona, os corticóides começaram a ser utilizados terapeuticamente, em indivíduos com artrite reumatóide. Em 1952 inicia-se sua utilização por via tópica, e o aprimoramento de produtos para esse fim por Sulzberger e Witten leva ao desenvolvimento do composto F. Esse composto recebeu mais tarde o nome de hidrocortisona, fisiologicamente representada pelo cortisol. Foi a partir daí que surgiram vários projetos visando o aprimoramento do composto F, dando origem aos diversos corticosteróides que hoje conhecemos, como a prednisolona, a



fluorohidrocortisona (1955), o acetato de triamcinolona (1960) e a dexametasona (1962) (Luengo, 2005; Jericó, 1999; Suárez e Váldez, 1998).

Os glicocorticóides são agentes lipossolúveis que atravessam a membrana celular e interagem com receptores nucleares, modificando a expressão gênica de proteínas receptoras existentes em praticamente todos os tecidos. São responsáveis pela manutenção de necessidades fisiológicas básicas, como a adequação do metabolismo intermediário, distribuição do volume extracelular, atividade cerebral e tônus muscular cardíaco e esquelético adequados. Sua principal aplicação terapêutica baseia-se em sua potente atividade anti-inflamatória. Os AIE são capazes de bloquear desde manifestações bastante precoces do processo inflamatório, como dor, calor e rubor, até as mais tardias, como reparação tecidual. O mecanismo de ação dessas moléculas é bastante amplo e complexo, mas merece destaque a inibição das enzimas fosfolipase A2 e cicloxigenase, interferindo no metabolismo do ácido araquidônico e impedindo a síntese de eicosanóides. Esse e outros efeitos anti-inflamatórios fazem parte da fisiologia de um animal saudável, mantendo a resposta inflamatória em níveis aceitáveis e colaborando, assim, para a homeostase orgânica (Jericó, 1999).

#### *Terapia Anti-inflamatória na SRIS/Sepse*

Quando a reação inflamatória torna-se descontrolada, os produtos resultantes do metabolismo do ácido araquidônico desempenham um papel fundamental na evolução da resposta inflamatória e da disfunção orgânica (Carvalho e Trotta, 2003). Por esse motivo, são diversas as pesquisas que buscam um maior entendimento sobre a terapia anti-inflamatória em pacientes sépticos.

O uso de anti-inflamatórios no tratamento da SRIS e sepse visa controlar ou inibir as ações da cascata inflamatória (Barton, 2007).

Algumas evidências, como ocorrência de sepse mais severa em pacientes com deficiência adrenal e uma reação inflamatória amplificada em ratos adrenalectomizados, levaram os pesquisadores a investirem em estudos relacionando a sepse ao uso de glicocorticóides, visando estabelecer uma terapia de reposição (Annane et al., 2002; Jericó, 1999). Annane et al. (2002) observaram que a administração de hidrocortisona associada à fludrocortisona em baixas doses beneficiou pacientes em choque séptico que apresentavam insuficiência adrenal relativa, reduzindo a mortalidade. Os autores advertem, no entanto, que mais estudos são necessários para avaliar esse mesmo efeito em pacientes com funcionamento normal da adrenal.

Estudos nessa mesma linha de pesquisa e em número mais expressivo são realizados também com anti-inflamatórios não-esteroidais. Um estudo com ratos que receberam lipopolissacarídeos comprovou que a administração de AINE (tanto não seletivo – indometacina – como seletivo para COX-2 – NS-398) atenuou a vasoconstrição pulmonar causada pela bradicinina. Esse resultado foi semelhante ao encontrado por outras pesquisas, que trabalharam com vasculaturas renal e mesentérica (Fisher et al., 2000). Memis et al. (2004) testaram o lornoxicam, um inibidor de cicloxigenases não seletivo, em pacientes com sepse severa, no entanto não encontraram diferença em parâmetros bioquímicos e hemodinâmicos com relação ao grupo que recebeu placebo. Nögel et al. (2009) compararam os efeitos do parecoxib (seletivo para COX-2) e da indometacina sobre o metabolismo dos tromboxanos e alterações hemodinâmicas em leitões neonatos sépticos (*Streptococcus* do grupo B). Os resultados foram semelhantes entre os dois grupos

com relação às alterações hemodinâmicas, mas o AINE seletivo para COX-2 não afetou a síntese de tromboxanos (potentes indutores da agregação plaquetária) durante o quadro de sepse, o que fez os autores presumirem que a inibição da COX-2 poderia reforçar o estado trombogênico associado a essa condição. Por outro lado, o parecoxib reduziu temporariamente a resistência vascular pulmonar, o que está de acordo com o resultado de Fisher et al. (2000). Em pesquisa realizada por Höcherl et al. (2002), ratos foram tratados com ketorolac (inibidor preferencial de COX-1) ou rofecoxib (seletivo para COX-2), com o objetivo de avaliar seus efeitos sobre os eventos cardiovasculares que acompanham a injeção de lipopolissacarídeos (aumento da frequência cardíaca e queda da pressão arterial sistólica). Foi observado que o rofecoxib, mas não o ketorolac, praticamente aboliu esses eventos, independente de sua aplicação ter ocorrido antes ou após a injeção de lipopolissacarídeos.

A sepse bacteriana normalmente associa-se a alterações na temperatura corporal, como febre ou hipotermia. Camundongos apresentaram hipotermia uma hora após serem submetidos à administração intraperitonal de lipopolissacarídeos, efeito que foi acompanhado do aumento na concentração de leucotrienos e prostaglandinas. O zileuton, um inibidor seletivo de LOX-5, foi aplicado 30 minutos antes do desafio endotoxínico e preveniu a queda da temperatura nesse grupo de animais, além de evitar um aumento tão evidente nos níveis de leucotrienos, efeitos não observados com o uso da indometacina. Ambos preveniram o aumento nos níveis de prostaglandinas, porém o zileuton o fez de uma forma mais discreta. Esse estudo sugere um efeito protetor dos inibidores de LOX-5 durante episódios de endotoxemia (Singh et al., 2005). Collin et al. (2004) também trabalharam com o zileuton, que foi aplicado em ratos e camundongos antes da indução de choque

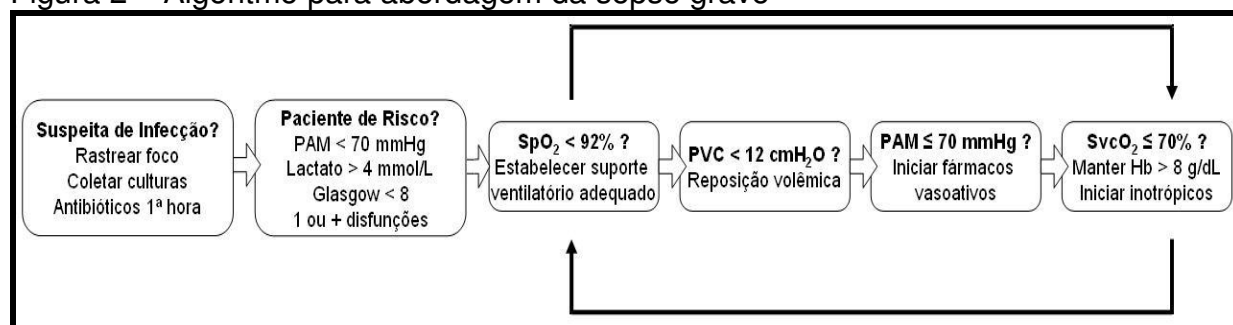
séptico pela administração intravenosa de lipopolissacarídeos. O uso do anti-inflamatório atenuou a disfunção hepática secundária à endotoxemia, mas o fez de forma menos pronunciada com relação à disfunção renal. A falência circulatória não foi afetada com o uso do fármaco, indicando que não foi por esse mecanismo que a inibição da LOX-5 protegeu a função hepática. Os autores concluíram que o zileuton e outros inibidores potentes da LOX-5, ao bloquearem a síntese de leucotrienos, podem ser auxiliares na terapia da síndrome da falência múltipla de órgãos associada ao choque endotóxico.

### *Outras terapias*

Além dos antiinflamatórios, o uso de antibióticos e fluidos também fornece precioso auxílio na terapêutica da sepse. No entanto, para aproveitar todo o potencial dessas classes de medicamentos deve-se atentar para um item fundamental no manejo da sepse: a precocidade, tanto em seu reconhecimento quanto em seu tratamento.

Em 2001, Rivers e colaboradores demonstraram a importância de um tratamento adequado e dirigido, sobretudo nas primeiras seis horas após a identificação de pacientes em choque séptico e sepse severa. As intervenções dirigidas a objetivos específicos, quando iniciadas precocemente, nas “horas de ouro” da chegada do paciente ao hospital (“early goal-directed therapy”), fornecem benefícios significativos em relação à evolução positiva do quadro. Essas intervenções tem como objetivo restabelecer o equilíbrio hemodinâmico, através de oxigenioterapia e administração de fluidos e medicamentos vasopressores para restauração da pressão (Figura 2), visando evitar a hipóxia tecidual.

Figura 2 – Algoritmo para abordagem da sepse grave



SvcO<sub>2</sub> = saturação venosa central; SpO<sub>2</sub> = saturação arterial de oxigênio pela oximetria; PVC = pressão venosa central; PAM = pressão arterial média.

Fonte: Adaptado de Boechat e Boechat, 2010

Com essa abordagem precoce e agressiva nas primeiras horas após o diagnóstico da sepse, é possível reduzir a mortalidade da sepse grave e choque séptico em aproximadamente 16% (Boechat e Boechat, 2010).

Com relação ao uso de antibióticos, Siddiqui et al. (2009) realizaram um estudo com pacientes humanos em sepse severa e perceberam que cada hora de atraso na administração de antibiótico foi associada ao aumento da mortalidade. O antibiótico deve ser administrado por via endovenosa e ser de amplo espectro, até que cheguem os resultados de culturas e antibiogramas (Henkin et al., 2009).

A reposição volêmica deve ser iniciada na ocorrência de hipotensão e/ou hiperlactatemia, de forma agressiva e precoce, no intuito de restaurar a perfusão tecidual (Boechat e Boechat, 2010). O fluido a ser infundido pode ser cristalóide ou colóide, e sua administração deve continuar enquanto houver melhora hemodinâmica (Henkin et al., 2009).

## CONCLUSÃO

A sepse é uma síndrome exaustivamente pesquisada devido ao elevado grau de mortalidade que provoca, mas os resultados obtidos ainda estão aquém das

expectativas. Conforme os estudos avançam com relação à fisiopatologia da inflamação, novas e custosas moléculas são lançadas na tentativa de obter um medicamento ideal, mas as respostas individuais são extremamente variáveis, dificultando a escolha do melhor protocolo terapêutico. Sendo assim, a melhor forma de reduzir a mortalidade secundária à sepse ainda é seu reconhecimento precoce. A percepção de uma síndrome tão séria como a SRIS associada a uma doença tão comum como a piometra é, portanto, imprescindível ao médico veterinário, que na maioria das vezes não dispõe dos recursos encontrados na medicina intensivista. É por esse motivo que pesquisas com medicamentos mais acessíveis ao clínico veterinário devem ser incentivadas, como por exemplo, os anti-inflamatórios. Possuir o conhecimento sobre as graves complicações associadas à piometra e fazer uso de medicações tão conhecidas e acessíveis quanto fluidos, antibióticos e anti-inflamatórios, podem aumentar as chances de sucesso no tratamento ou controle da síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepse.

## REFERÊNCIAS

ANNANE, D.; SE´BILLE, V.; CHARPENTIER, C.; BOLLAERT, P.; FRANÇOIS, B.; KORACH, J.; CAPELLIER, G.; COHEN, Y.; AZOULAY, E.; TROCHE, G.; CHAUMET-RIFFAUT, P.; BELLISSANT, E. Effect of Treatment With Low Doses of Hydrocortisone and Fludrocortisone on Mortality in Patients With Septic Shock. **JAMA – Journal of American Medical Association**. August 21, v.288, n.7, p.862-871, 2002.

BARTON, L. Sepsis and the Systemic Inflammatory Response Syndrome. In: Fossum, T.W. **Small Animal Surgery**. 3.ed. St.Louis: Mosby, p.124, 2007.

BIGLIARDI, E.; PARMIGIANI, E.; CAVIRANI, S.; LUPPI, A.; BONATI, L.; CORRADI, A. Ultrasonography and Cystic Hyperplasia–Pyometra Complex in the Bitch. **Reproduction in Domestic Animals**. v.39, p.136–140, 2004.

BOECHAT, A.L.; BOECHAT, N.O. Sepse: diagnóstico e tratamento. **Revista Brasileira de Clínica Médica**. São Paulo, set/out, v.8, n.5, p.420-427, 2010.

BRAÑA M.F.; DEL RÍO, L.A.; TRIVES, C.; SALAZAR, N. La verdadera historia de la Aspirina. **Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia**. v.71, p.813-819, 2005.

CARVALHO, P.R.A.; TROTTA, E.A. Avanços no diagnóstico e tratamento da sepse. **Jornal de Pediatria (RJ)**. v.79(Supl.2), p.S195-S204, 2003.

CLARK, T.P. The Clinical Pharmacology of Cyclooxygenase-2–Selective and Dual Inhibitors. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v.36, p.1061–1085, 2006.

COLLIN, M.; ROSSI, A.; CUZZOCREA, S.; PATEL, N.S.A.; PAOLA, R.; HADLEY, J.; COLLINO, M.; SAUTEBIN, L.; THIEMERMANN, C. Reduction of the multiple organ injury and dysfunction caused by endotoxemia in 5-lipoxygenase knockout mice and by the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton. **Journal of Leukocyte Biology**. November, v.76, p.961-970, 2004.

DABROWSKI, R.; WAWRON, W.; KOSTRO, K. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. **Theriogenology**. v.67, p.321-327, 2007.

FALDYNA, M.; LAZNICKA, A.; TOMAN, M. Immunosuppression in bitches with pyometra. **Journal of Small Animal Practice**. Jan, v.42(1), p.5-10, 2001.

FELDMAN, E.C. O Complexo Hiperplasia Endometrial Cística/ Piometra e Infertilidade em Cadelas In: Ettinger, S.J.; Feldman, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.2 p.1632-1649, 2004.

FISHER, L.G.; HOLLMANN, M.W.; HORSTMAN, D.J.; RICH, G.F. Cyclooxygenase Inhibitors Attenuate Bradykinin-Induced Vasoconstriction in Septic Isolated Rat Lungs. **Anesthesia and Analgesia**. v.90, p.625–631, 2000.

FRANSSON, B.; LAGERSTEDT, A.S.; HELLMEN, E.; JONSSON, P. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. **Zentralbl Veterinarmed A**. September, n.44, v.7, p.417-426, 1997.

FRANSSON, B.A. **Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra – The Response to Bacterial Uterine Infection**. 2003. Uppsala, 49p. Doctoral thesis – Department of Small Animal Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences.

FRANSSON, B.A.; LAGERSTEDT, A.S.; BERGSTROM, A.; HAGMAN, R.; PARK, J.S.; CHEW, B.P.; EVANS, M.A.; RAGLE, C.A. C-reactive protein, tumor necrosis factor  $\alpha$ , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.17(4), p.373-381, 2007.

HAGMAN, R.; KINDAHL, H.; LAGERSTEDT, A-S. Pyometra in Bitches Induces Elevated Plasma Endotoxin and Prostaglandin F2 $\alpha$  Metabolite Levels. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v.47, n.1, p.55-68, 2006.

HAGMAN, R.; REEZIGT, B.J.; LEDIN, H.B.; KARLSTAM, E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v.51, n.2, 2009.

HAUPTMAN J.G.; WALSHAW R.; OLIVIER N.B. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary Surgery**. v.26, p.393-397, 1997.

HEDLUND, C.S. Cirurgia dos Sistemas Reprodutivo e Genital In: Fossum, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. 2.ed. São Paulo: Roca, p.638-644, 2005.



HEIENE, R.; KRISTIANSEN, V.; TEIGE, J.; JANSEN, J.H. Renal histomorphology in dogs with pyometra and control dogs, and long term clinical outcome with respect to signs of kidney disease. **Acta Veterinaria Scandinavica**. v.49, n.13, 2007.

HENKIN, C.S.; COELHO, J.C.; PAGANELLA, M.C.; SIQUEIRA, R.M.; DIAS, F.S. Sepse: uma visão atual. **Scientia Medica**. Jul/Set, Porto Alegre, v.19, n.3, p.135-145, 2009.

HÖCHERL, K.; DREHER, F.; KURTZ, A.; BUCHER, M. Cyclooxygenase-2 Inhibition Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Cardiovascular Failure. **Hypertension**. v.40, December, 2002.

JERICÓ, M.M. Antiinflamatórios Esteroidais. In: Spinosa, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.227-237, 1999.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Comunicações Celulares por Meio de Sinais Químicos. In: \_\_\_\_\_. **Biologia celular e molecular**. 5ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.100-110, 1991

LAMANO-CARVALHO, T.L. Efeito dos anti-inflamatórios não-esteroidais convencionais e seletivos para COX-2 sobre o reparo ósseo. **Acta Ortopédica Brasileira**. v.15, n.3, 2007.

LEONE, S.; OTTANI, A.; BERTOLINI, A. Dual Acting Anti-Inflammatory Drugs. **Current Topics in Medicinal Chemistry**. v.7, p.265-275, 2007.

LUCAS, S.S.; OLIVEIRA, A.L.L.; SCHOSSLER, J.E.W. Piometrite em cães e gatos: revisão de 103 casos. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**. v.7/8, n.1, p.99-103, 2000/2001.

LUENGO, M.L. Uma Revisão Histórica dos Principais Acontecimentos da Imunologia e da Farmacologia na Busca do Entendimento e Tratamento das Doenças Inflamatórias. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.2(2), p.64-72, 2005.

Disponível em: [http://www.farmacia.ufg.br/revista/\\_pdf/vol2\\_2/artigos/ref\\_v2\\_2-2005\\_p64-72.pdf](http://www.farmacia.ufg.br/revista/_pdf/vol2_2/artigos/ref_v2_2-2005_p64-72.pdf). Acesso em: 06 nov. 2009.

MADDENS, B.; DAMINET, S.; SMETS, P.; MEYER, E. Escherichia coli Pyometra Induces Transient Glomerular and Tubular Dysfunction in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. Nov-dec, v.24, n.6, p.1263-1270, 2010.

MEMIS, D.; KARAMANLIOĞLU, B.; TURAN, A.; KOYUNCU, O.; PAMUKÇU, Z. Effects of lornoxicam on the physiology of severe sepsis. **Critical Care**. December, v.8, n.6, p.R474-R482, 2004.

MONCADA S.; FERREIRA S.H.; VANE, J.R. Prostaglandins, aspirin-like drugs and the oedema of inflammation. **Nature**. November, v.23, 246(5430), p.217–219, 1973.

NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, M.; OHNO, K.; KOSHINO, A.; NAKASHIMA, K.; SETOGUCHI, A.; FUJINO, Y.; TSUJIMOTO, H. C-Reactive Protein Concentration in dogs with Various Diseases. **Journal of Veterinary Medicine Science**. v.70(2), p.127-131, 2008.

NÖGEL, S.C.; CHADA, M.; SCHMIDT, A.; BOSSELMANN, S.; KANDLER, M.; SCHWEER, H.; WATZER, B.; SCHNEIDER, H.; GESSNER, A.; RASCHER, W. Parecoxib does not suppress thromboxane synthesis in newborn piglets with group B streptococcal sepsis. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**. v.90, p.7-12, 2009.

OKANO, S.; TAGAWA, M.; TAKASE, K. Relationship of the Blood Endotoxin Concentration and Prognosis in Dogs with Pyometra. **Journal of Veterinary Medical Science**. n.60, v.11, p.1265-1267, 1998.

OLIVEIRA, C.M. Medicamentos que Atuam na Motilidade Uterina. In: Spinosa, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.342-343, 1999.

PALERMO-NETO, J. Prostaglandinas. In: Spinosa, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.200-211, 1999.

PAREDES-AGUILERA, R. Coagulación intravascular diseminada. **Gaceta Médica de México**. v.139, Suplemento n.2, p.S55-S61, 2003.

PINTÃO, M.C.T.; FRANCO, R.F. Coagulação Intravascular Disseminada. **Medicina, Ribeirão Preto**. Julho/Dezembro, v.34, p.282-291, 2001.

PRETZER, S.D. Clinical presentation of canine piometra and mucometra: A review. **Theriogenology**. v.70, p. 359-363, 2008.

REDDY, R.C.; CHEN, G.H.; TATEDA, K.; TSAI, W.C.; PHARE, S.M.; MANCUSO, P.; PETERS-GOLDEN, M.; STANDIFORDS, T.J. Selective inhibition of COX-2 improves early survival in murine endotoxemia but not in bacterial peritonitis. **American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology**. v.281, p.L537–L543, 2001.

RIVERS, E.; NGUYEN, B.; HAVSTAD, S.; RESSLER, J.; MUZZIN, A.; KNOBLICH, B.; PETERSON, E.; TOMLANOVICH, M. Early Goal-Directed Therapy in the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock. **The New England Journal of Medicine**. Nov 8, v. 345, n.19, 2001.

SIDDIQUI, S.; SALAHUDDIN, N.; RAZA, A.; RAZZAK, J. How early do antibiotics have to be to impact mortality in severe sepsis? A prospective, observational study from an emergency department. **Journal of Ayub Medical College, Abbottabad**. Oct-Dec, v.21, n. 4, p.106-110, 2009.

SILVA, E.; LEITÃO, S.; FERREIRA-DIAS, G.; LOPES DA COSTA, L.; MATEUS, L. Prostaglandin Synthesis Genes are Differentially Transcribed in Normal and Pyometra Endometria of Bitches. **Reproduction in Domestic Animals**. v.44 (Suppl.2), p.200-203, 2009.

SINGH, V.P.; PATIL, C.S.; KUMAR, M.; KULKARNI, S.K. Effect of 5-lipoxygenase inhibitor against lipopolysaccharide-induced hypothermia in mice. **Indian Journal of Experimental Biology**. December, v.43(12), p.1150-1155, 2005.

SMITH, F.O. Canine pyometra. **Theriogenology**. v.66, p.610-612, 2006.

STOKES, J.E.; FORRESTER, S.D. New and unusual causes of acute renal failure in dogs and cats. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v.34, p.909-922, 2004.

SÜLEYMAN, H.; DEMIRCAN, B.; KARAGÖZ, Y. Anti-inflammatory and side effects of cyclooxygenase inhibitors. **Pharmacology Reports**. May-Jun, n.59, v.3, p.247-258, 2007.

SUÁREZ, G.A.; VALDÉS, J.A.G. Esteroides y crecimiento. **Revista Cubana Alimentación y Nutrición**. v.12(1), p. 40-45, 1998.

Disponível em: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12\\_1\\_98/ali08198.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol12_1_98/ali08198.htm). Acesso em: 06 nov. 2009.

TASAKA, A.C. Antiinflamatórios não-esteroidais. In: Spinosa, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.212-226, 1999.

TAYLOR, S.M. Poliúria e Polidipsia. In: Ettinger, S.J.; Feldman, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.1, p.88-92, 2004.

TILLEY, L.P.; SMITH, F.W.K. **Consulta Veterinária em 5 Minutos**. 2.ed. Barueri: Manole, p.1138-1139, 2003.

VANE JR. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. **Nature New Biology**. June 23, 231(25), p.232-235, 1971.

VERSTEGEN, J.; DHALIWAL, G.; VERSTEGEN-ONCLIN, K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: Advances in treatment and assessment of future reproductive success. **Theriogenology**. v.70, p.364–374, 2008.

### 3. CAPÍTULO 2: Revisão de Literatura

#### DOSAGEM DE PROTEÍNA C REATIVA EM CÃES

*(Determination of C-reactive Protein in Dogs)*

**RESUMO** – A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado em situações de lesão tissular ocasionada pelos mais diversos fatores. Em cães, níveis elevados dessa proteína geralmente estão correlacionados à extensão e atividade da doença, bem como valores sucessivamente decrescentes indicam boa resposta à terapêutica empregada. Sua alta concentração já foi relacionada a diversas doenças e condições inflamatórias em geral. Existem variados kits comerciais disponíveis para sua dosagem, alguns específicos para a espécie canina e outros adaptáveis, havendo grande variação entre os valores de referência. Sendo assim, é de grande importância a realização de mais pesquisas sobre o assunto, a fim de possibilitar ao clínico veterinário o uso rotineiro e sem hesitações dessa importante ferramenta diagnóstica.

**Palavras-chave** – marcador, pentraxina, proteína de fase aguda, reação inflamatória

**ABSTRACT** – The C-reactive protein is an acute phase protein produced by the liver in situations of tissue injury caused by several factors. In dogs, high levels of this protein are correlated with the extent and activity of disease, and successively decreasing values indicate good response to therapy employed. Its high concentration has been linked to several diseases and inflammatory conditions in general. There are several commercial kits available for its strength, some specific to

dogs and other adaptable, with great variation between the benchmarks. It is therefore of great importance to carrying out further research on the subject in order to allow the veterinary practitioner and the routine use without hesitation that important diagnostic tool.

**Key words** – acute phase protein, inflammatory response, marker, pentraxin

## **INTRODUÇÃO**

A proteína C reativa é sintetizada pelo fígado e seus níveis séricos aumentam em condições de danos teciduais, sob estímulo de citocinas pró-inflamatórias. Atualmente, trabalhos têm relacionado sua elevada concentração a quadros inflamatórios e infecciosos, já que ela tende a aumentar rapidamente após a introdução do estímulo e diminuir de forma contínua em casos de resposta terapêutica favorável. A proteína C reativa em cães é análoga à humana, também apresentando precioso valor diagnóstico nessa espécie.

O texto objetiva um maior esclarecimento sobre essa proteína e suas aplicações na medicina e na medicina veterinária de pequenos animais, além de comentar sobre os kits atualmente disponíveis para sua dosagem, com o intuito de incentivar o uso rotineiro desse parâmetro nas clínicas e hospitais veterinários.

## DESENVOLVIMENTO

### *Inflamação e Resposta de Fase Aguda*

A inflamação é uma resposta orgânica a qualquer dano tecidual causado por agentes infecciosos (vírus, bactérias, parasitas, fungos), agressões físicas, químicas e imunológicas (deposição de complexos antígeno-anticorpo). Ela é resultado da atividade da imunidade inata, caracterizada por sua rapidez e inespecificidade, não necessitando de contato prévio com o agente agressor e não se modificando após outros contatos (Tizard, 1985). A resposta de fase aguda que esse tipo de imunidade ocasiona resulta da ação de componentes como proteínas solúveis, sistema complemento, quimiocinas (especificamente citocinas) e células (macrófagos/monócitos e neutrófilos). Os macrófagos/monócitos liberam citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-6, a interleucina-1 e o fator de necrose tumoral, que por sua vez estimulam a biossíntese de proteínas plasmáticas de fase aguda (PFA) pelos hepatócitos (Paltrinieri, 2008). Variações na concentração sérica das PFA, febre e leucocitose são os três principais acontecimentos da resposta de fase aguda, que objetiva a remoção de estímulos inflamatórios, a promoção da cicatrização e outros processos reparadores e a restauração da homeostasia. Porém, as funções individuais das PFA ainda não estão completamente esclarecidas (Cerón et al., 2005).

### *Principais Proteínas de Fase Aguda em Cães e Gatos*

Para uma melhor compreensão sobre as PFA mais pesquisadas em pequenos animais, primeiramente é necessário conhecer a classificação dessas moléculas.

As PFA são classificadas de três formas:

- De acordo com sua concentração sérica diante do estímulo, em negativas e positivas.

Albumina, transferrina, apolipoproteína A1, proteína ligadora de retinol, proteína ligadora de cortisol e transtiretina são exemplos de PFA negativas, ou seja, proteínas cuja síntese é inibida em casos de estímulo inflamatório. Essa inibição objetiva poupar aminoácidos, que poderão ser utilizados na síntese de PFA positivas. A albumina é a principal PFA negativa no cão, não havendo informações sobre felinos, pois não foi elucidado ainda se a hipoalbuminemia resulta do extravasamento vascular em tecidos inflamados ou se ocorre realmente pela redução da produção hepática (Paltrinieri, 2008).

As proteínas de fase aguda positivas incluem a proteína C reativa (PCR), frações C3 e C4 do sistema complemento,  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida, proteína ligadora de lipopolissacarídeos, haptoglobina, amilóide sérico A, amilóide sérico P, ceruloplasmina, fibrinogênio,  $\alpha$ 1-antitripsina, hepcidina e antitrombina III. Alguns autores preferem denominar as PFA como reagentes de fase aguda, pois dessa forma são incluídas moléculas não-proteicas que também aumentam durante a resposta de fase aguda, como o ácido siálico sérico e os hormônios gonadotropina, grelina e leptina (Paltrinieri, 2008). Em cães, as principais PFA positivas pesquisadas são a proteína C reativa (PCR), a haptoglobina, o amilóide sérico A, o



fibrinogênio e a  $\alpha$ -1-glicoproteína (Martínez-Subiela et al., 2001). Nos gatos, merecem destaque a  $\alpha$ -1-glicoproteína, amilóide sérico A e haptoglobina (Paltrinieri, 2008; Kajikawa et al., 1999).

- De acordo com a magnitude de seu aumento.
  - De forma geral, em I (aumento até 100%), II (aumento até 10 vezes) e III (aumento maior que 10 vezes)
  - Em cada espécie, em principais e secundárias.

A concentração das PFA positivas começa a aumentar nas primeiras horas após o estímulo, com picos em 24-48 horas, e permanece elevada enquanto persistir esse estímulo. É por esse motivo que a dosagem dessas proteínas apresenta uma ferramenta importante no diagnóstico precoce de condições inflamatórias e na avaliação do tratamento instituído.

Em cães, as PFA que apresentam aumento mais significativo são a PCR e o amilóide sérico A. Já nos gatos, são a  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida e o amilóide sérico A. Portanto, devem-se levar em consideração essas variações entre as espécies ao se escolher o marcador a ser dosado quando o objetivo é concluir o diagnóstico (Quadro 1).

Tabela 1 – Classificação geral e específica das PFA quanto à magnitude de seu aumento.

PFA POSITIVA	CLASSIFICAÇÃO	CLASSIFICAÇÃO ESPECÍFICA	
	GERAL	CÃES	GATOS
Haptoglobina	II	Secundária (II)	Secundária (I/II)
Fração C3 do Sist. Compl.	I	Secundária (I/II)	Secundária (I/II)
Fração C4 do Sist. Compl.	I	Secundária (I/II)	Secundária (I/II)
Ceruloplasmina	I	Secundária	Secundária
$\alpha$ -1-glicoproteína ácida	II	Secundária (II)	<b>Principal</b> (II)
Amilóide Sérico A	III	<b>Principal</b> (III)	<b>Principal</b> (III)
Proteína C Reativa	II	<b>Principal</b> (III)	Secundária (II)

Adaptado de Paltrinieri (2008)

- Segundo sua função biológica, em proteínas que intervêm na defesa do organismo, inibidoras de proteases e transportadoras com atividade anti-oxidante.

As proteínas que intervêm na defesa do organismo agem de forma a modular a eficiência da resposta imune; incluem-se nesse grupo a PCR, frações C3 e C4 do sistema complemento,  $\alpha$ -1-glicoproteína ácida e a proteína ligadora de lipopolissacarídeos. As inibidoras de proteases objetivam proteger os tecidos de lesões causadas por mediadores inflamatórios, sendo exemplos desse grupo o amilóide sérico A e a  $\alpha$ 1-antitripsina. As proteínas transportadoras, como a haptoglobina e a ceruloplasmina, evitam a perda de moléculas importantes ao organismo, além de exercer papel protetor devido a seu efeito anti-oxidante. Apesar dessa classificação, a maioria das PFA apresenta ações mistas. É o caso da PCR, que além de se ligar a peptídeos bacterianos, também modula a resposta de algumas células inflamatórias (Paltrinieri, 2008; Martínez-Subiela et al., 2001).

### *Histórico*

A PCR foi descoberta por Tillett e Francis em 1930, em um estudo sobre as reações sorológicas em pacientes com pneumonia pneumocócica. Os autores observaram um terceiro constituinte da estrutura da bactéria gram-positiva *Streptococcus pneumoniae* (antes denominado *Pneumococcus pneumonia*), além dos outros dois já conhecidos (um polissacarídeo complexo e uma nucleoproteína), ao qual denominaram Fração C, um carboidrato. A Fração C foi isolada e preparada em várias diluições, para então ser misturada ao soro de pacientes com pneumonia. Foi observada uma reação de precipitação no soro de pacientes agudamente doentes, o que não se observava mais em 1 ou 2 dias após a recuperação. Nos indivíduos que sucumbiram à infecção, a precipitação continuou ocorrendo até o momento do óbito. Já em pessoas saudáveis não foi observada tal reação. Os autores se referiam à PCR como “Precipitinas para a fração somática C do *Pneumococcus*”, pois pensavam ser um anticorpo o responsável pela reação de precipitação (Tillett e Francis, 1930).

A descoberta de que essa molécula era uma proteína ocorreu apenas 11 anos mais tarde, quando então passou a ser chamada de proteína C reativa. Ainda em 1941, a mesma equipe de pesquisadores descobriu que para ocorrer tal reação era necessária a presença de cálcio, conclusão obtida ao observarem que soro e plasma não apresentavam a mesma intensidade de precipitação ao entrarem em contato com a fração C. Também foram eles que introduziram o termo “fase aguda”, ao se referirem ao soro obtido de pacientes agudamente doentes (Abernethy e Avery, 1941; MacLeod e Avery, 1941<sub>a</sub>; MacLeod e Avery, 1941<sub>b</sub>).

Em 1966 Dillman e Coles utilizaram um teste humano de aglutinação em látex para detectar a PCR em cães, sendo isolada em 1972 por Riley e Zontine, que também desenvolveram um anticorpo anti-PCR para essa espécie (Caspi et al., 1984).

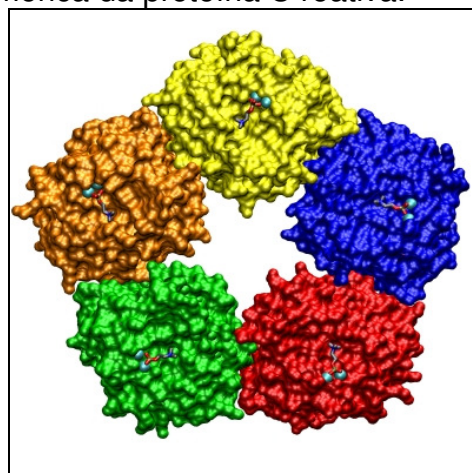
### *Estrutura e Mecanismo de Ação*

A PCR é uma glicoproteína pertencente à família das pentraxinas, uma superfamília de proteínas filogeneticamente conservadas desde aracnídeos até mamíferos, componentes da resposta humoral imune inata (Mantovani et al., 2008). Acredita-se que seja uma proteína essencial à vida por sua permanência ao longo da evolução das espécies e por não existirem relatos de deficiência de PCR em humanos (Diehl, 2000; Shrive et al., 1996).

Sua produção é predominantemente hepática (pelos hepatócitos), mas subpopulações de linfócitos marginais também podem sintetizá-la, bem como células de Kupffer e monócitos (Park et al., 2005; Ruleva et al., 2003). Diferentemente da PCR hepática, que é secretada na corrente sanguínea, a PCR produzida em locais extra-hepáticos parece funcionar de forma autócrina, raramente contribuindo para o nível sérico (Dong e Wright, 1996 citado por Park et al., 2005).

Estruturalmente, caracteriza-se por um arranjo cíclico composto por cinco subunidades (Figura 1) bastante resistentes à proteólise, sendo duas glicosiladas, unidas de forma não-covalente, chamadas protômeros, cada qual contendo 206 aminoácidos e pesando aproximadamente 23 KDa (Silva e Machado, 2005; Caspi et al., 1984). Cada subunidade contém 2 sítios de ligação para íons cálcio e 1 para a molécula fosfocolina (Shrive et al., 1996).

Figura 1 – Estrutura pentamérica da proteína C reativa.



Fonte: [http://www.expasy.org/spotlight/back\\_issues/030/](http://www.expasy.org/spotlight/back_issues/030/)

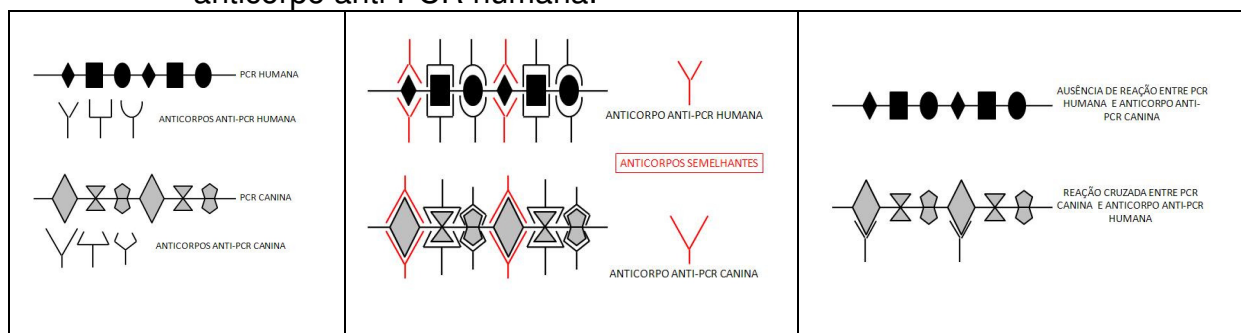
Acesso em: 7 de dezembro de 2010

Uma segunda estrutura da PCR já foi identificada em humanos, sendo chamada de forma monomérica, neo-PCR ou forma modificada (mCRP). A neo-PCR caracteriza-se por sua baixa solubilidade no soro e sua associação aos linfócitos do sangue periférico e à parede vascular. Diehl et al. (2000) encontraram-na em amostras normais de tecido pulmonar, ovariano, testicular e cardíaco, associada à vasculatura. Os autores sugerem que a PCR é a forma como a neo-PCR é transportada pelo soro, sendo então convertida às formas monoméricas e depositada na parede dos vasos, onde exerceria funções de hemostasia, ativação plaquetária, expressão de moléculas de adesão e regulação da permeabilidade celular endotelial e do tônus vascular. Essas suposições surgiram a partir do fato de que uma das principais funções da imunidade inata é a criação e manutenção de barreiras que detenham a infecção; sendo assim, seria possível considerar a neo-PCR um componente da primeira linha de defesa do sistema circulatório.

As PCR humana e canina não compartilham a mesma antigenicidade, mas contêm determinantes antigênicos estruturalmente semelhantes (Figura 2). Isso

explica porque a maioria dos testes para dosagem de PCR humana reage com o soro de cães, não ocorrendo o contrário, ou seja, kits específicos para cães não reagem com amostras contendo PCR humana (Yamamoto et al., 1993). A espécie animal em que o anticorpo foi preparado pode interferir na ocorrência de reatividade cruzada; anticorpos anti-PCR humana obtidos a partir de coelhos e ovelhas podem não reagir com a PCR canina, fato observado no experimento de Maudsley e Pepys (1987). Dillman e Coles (1966), no entanto, conseguiram obter essa reatividade cruzada, o que os autores anteriormente citados explicam como sendo diferenças individuais dentro da mesma espécie durante a produção de anticorpos anti-PCR humana.

Figura 2 – Representação esquemática da reatividade cruzada entre PCR canina e anticorpo anti-PCR humana.



Fonte: Adaptado de Yamamoto et al. (1993)

A PCR é a única PFA envolvida diretamente na depuração de microorganismos, sendo considerada uma opsonina inata; ou seja, ela reconhece os microorganismos e providencia sua eliminação pelas células fagocíticas. Processo semelhante ocorre com os tecidos necróticos. Na presença de cálcio, ela se liga a polissacarídeos e peptideopolissacarídeos constituintes de fungos, bactérias e parasitas, ativando a via clássica do sistema complemento, responsável pela opsonização e fagocitose do agente agressor. A PCR estimula a citotoxicidade celular por meio da ativação de

neutrófilos e do aumento da atividade de linfócitos “natural killers” (Mantovani et al., 2008; Silva e Machado, 2005; Diehl et al., 2000).

A PCR também se liga a fosfolipídeos na presença de cálcio, com grande afinidade. O fator de agregação plaquetária e a membrana celular das plaquetas são compostos por fosfolipídeos, o que explica a função inibitória da PCR sobre a agregação plaquetária. Ao se ligar aos fosfolipídeos de membrana, exerce função protetora contra a ação dos lisolipídeos, formados a partir da atividade das fosfolipases e que têm ação detergente, rompendo as membranas celulares. Em consequência da inatividade das fosfolipases, há inibição da liberação de ácido araquidônico, evitando a formação de tromboxanos e leucotrienos (Vigo, 1985).

Apesar de todos esses efeitos benéficos, Pepys e Baltz (1983) sugeriram que uma resposta exacerbada da PCR poderia trazer efeitos deletérios ao organismo, em decorrência de possíveis danos teciduais extensos. Os autores chegaram a essa suposição ao fazerem uma analogia com a amiloidose, problema causado pelo acúmulo dos amilóides séricos A e P, proteínas de fase aguda com cinética semelhante à da PCR. O que se sabe atualmente é que a PCR, além de um biomarcador, pode também ser uma mediadora da aterogênese (formação de ateromas na parede vascular). Em um estudo *in vitro*, a PCR em concentrações de 15 a 20 mg/L reduziu drasticamente o número e a atividade de células endoteliais progenitoras, responsáveis pela neovascularização compensatória à isquemia crônica (Verma et al., 2004). Ela pode também iniciar ou acelerar a deposição de lipoproteínas de baixa densidade na parede arterial (Diehl et al., 2000). Ou seja, como já observado em tantas outras situações mórbidas, para a homeostasia do organismo, excessos são danosos até mesmo em casos de moléculas benéficas.

### *Metodologias Disponíveis*

Existem variadas metodologias para a dosagem da PCR, como por ELISA (ensaio imunossorbente ligado à enzima), nefelometria, turbidimetria, imunofluorometria e aglutinação em látex. Alguns testes são chamados ultra-sensíveis, pois detectam a PCR em concentrações muito baixas, inferiores a 1mg/L.

Os testes podem ser de caráter qualitativo, semi-quantitativo ou quantitativo. O método qualitativo indica a presença ou ausência de PCR de acordo com a ocorrência ou não de aglutinação, que pode ser graduada em cruces. Os casos positivos podem ser submetidos ao método semi-quantitativo pela diluição progressiva do soro.

A PCR pode ser dosada no sangue total, plasma, soro, efusões e até mesmo na saliva e na urina.

Testes desenvolvidos para humanos podem ser utilizados para dosagem da PCR em cães, mas a reação não ocorrerá sempre, como citado anteriormente. Algumas vezes a reação ocorre, mas os resultados podem ser incompatíveis com a amostra estudada, ou seja, mesmo em animais doentes (em sepse, por exemplo), encontram-se valores abaixo de 1mg/L. Exemplos de marcas cujos resultados não se adequaram ao estado de saúde do animal testadas pelos autores incluem o Avitex CRP® método semi-quantitativo (Omega Diagnostics), o PCR Ultra Turbiquest® (Labtest) e o Reativo Seco Vitros Para Proteína C Reativa CRP (Vitros Chemistry).

Yamamoto et al. (1993) não recomendam a utilização de testes humanos, mesmo que ocorra a reação cruzada, uma vez que já estão disponíveis testes para dosagem da PCR canina. No entanto, há alguns empecilhos importantes desses kits



específicos, como alto custo e difícil aquisição (fatores que geralmente restringem seu uso à pesquisa). Os autores pesquisaram 7 marcas de kits cuja metodologia é o ELISA, contendo 96 poços; os preços variaram de US\$375,00 a US\$654,00 (não incluídas despesas com transporte), e apenas 1 marca possuía representante no Brasil (C-Reactive Protein Canine EIA, US\$630,00).

Essas dificuldades, no entanto, não devem ser um obstáculo à dosagem de PCR, mas sim um incentivo à intensificação das pesquisas sobre o assunto, direcionando os estudos para os kits de mais fácil acesso ao mercado brasileiro e de menor custo, descobrindo aqueles que de fato apresentam resultados compatíveis com a situação clínica encontrada.

### *Interpretação*

A PCR apresenta alta sensibilidade (71 a 98%) para diagnosticar processos infecciosos, porém, baixa especificidade (66 a 87%), uma vez que se eleva também em outras situações, como traumas cirúrgicos, doenças inflamatórias, neoplásicas e auto-imunes (Silva e Machado, 2005; Andriolo et al., 2004).

Algumas de suas características mais importantes, do ponto de vista clínico, são seu rápido aumento após a introdução de um estímulo agudo e seu rápido declínio quando cessa o estímulo inflamatório, apresentando uma meia-vida de aproximadamente 19 horas em humanos (Silva e Machado, 2005). Em cães, não há estudos sobre a meia-vida da PCR, mas acredita-se que seja curta (Cerón et al., 2005); Bayramli e Ulutas (2008) consideram a meia-vida de proteínas de fase aguda, de uma forma geral, como sendo de 1-9 horas. Em apenas 4 horas já se detecta uma variação importante em sua concentração diante de um estímulo, o que fornece

importante auxílio diagnóstico, além de ajudar na avaliação da resposta à terapia, já que seus níveis tendem a diminuir com a medicação apropriada (Silva e Machado, 2005; Caspi et al., 1984).

Há algumas controvérsias com relação ao valor prognóstico da dosagem de PCR, já que, de acordo com a doença, pode ser considerada ou não para essa finalidade. Um bom marcador prognóstico deve prever a severidade da doença e o risco de óbito de determinado paciente (Marshall et al., 2003). Silvestre et al. (2008), estudando pacientes em sepse, não encontraram correlação entre os níveis de PCR e a severidade da sepse, falência orgânica e taxa de mortalidade, concluindo que essa não é uma boa ferramenta prognóstica em pacientes sépticos. Sierra et al. (2004), no entanto, encontraram valores mais elevados em pacientes com sepse severa do que naqueles com sepse.

O que poderia explicar esses resultados conflitantes é a interferência do fígado sobre a síntese da PCR. Algumas vezes, a sepse grave cursa com falência do fígado (Posen e DeLemos, 1998), principal órgão responsável pela produção desse marcador, estimulado principalmente pela interleucina-6. Sendo assim, níveis decrescentes dessa proteína nesses pacientes nem sempre são indicativos de sucesso, assim como resultados persistentemente negativos (ou seja, ausência de aglutinação nos testes que se utilizam dessa metodologia) estariam associados a um mau prognóstico (Silva e Machado, 2005; Sharma et al., 1993). Em um estudo com bebês em sepse, 75% dos que apresentaram valores negativos de PCR no momento do diagnóstico vieram a óbito (Sharma et al., 1993). Ainda com relação a pacientes com comprometimento hepático, Park et al. (2005) investigaram a variação desse parâmetro em indivíduos com cirrose e bacteremia por *Escherichia coli*. Os autores observaram que pacientes com bacteremia (com e sem cirrose)

apresentaram valores significativamente mais elevados do que pacientes com cirrose. Comparando-se os indivíduos com bacteremia, valores significativamente menores de PCR foram encontrados naqueles vitimados pela cirrose, e entre esses, valores ainda menores em quem apresentava um quadro mais avançado da doença. Concluiu-se que a produção de PCR está diminuída, porém não completamente abolida em portadores de disfunções hepáticas.

Valores normais de PCR, mesmo em pacientes sabidamente portadores de infecção, também podem ser explicados por uma antibioticoterapia inadequada, que possibilitaria a permanência de uma infecção residual, porém em um limiar insuficiente para iniciar ou manter uma resposta inflamatória sistêmica, não estimulando, assim a síntese de PCR, o mesmo ocorrendo com o uso de anti-inflamatórios (Posen e DeLemos, 1998).

Com relação a essa última informação (uso de anti-inflamatórios), no entanto, há alguns dados controversos. Não foi observada alteração na concentração da PCR em cães submetidos a diferentes tratamentos com glicocorticóides (Martínez-Subiela et al., 2004 citado por Caldin et al., 2009). Da mesma forma, cães com hiperadrenocorticismos (sem complicações intercorrentes) apresentaram valores de PCR semelhantes aos de cães saudáveis, em estudo conduzido por Caldin et al. (2009).

Nielsen et al. (2007), pesquisando cães com linfoma multicêntrico, observaram valores normais de PCR em alguns animais sabidamente doentes, que, teoricamente, deveriam apresentar elevação nesse parâmetro. Nenhum deles apresentava falência hepática em decorrência de infiltração neoplásica, e os autores sugeriram que tal disparidade poderia ser explicada pela variação individual. Isso também explicaria porque, algumas vezes, animais aparentemente saudáveis

apresentam valores elevados de PCR, mesmo apresentando leucograma normal e ausência de sinais clínicos compatíveis com inflamação ou infecção. Isso ocorreu, por exemplo, em dois cães do grupo controle do estudo conduzido por Veiga et al. (2008).

Diferentes microorganismos podem induzir diferentes respostas da PCR. Quando o agente etiológico suspeito for o *Streptococcus agalactiae* (estreptococo do grupo B) recomenda-se repetir a dosagem da PCR 24 horas após a suspeita diagnóstica, pois essa bactéria induz uma elevação mais lenta dessa proteína, o mesmo ocorrendo com microorganismos intracelulares (Ceccon, 2008; Shimada et al., 2002). Os estafilococos coagulase negativos aumentam pouco a PCR, em contraste com o que é observado quando a sepse é causada por *Staphylococcus aureus* e bactérias Gram-negativas (Ceccon, 2008).

A interpretação de resultados de amostras hemolisadas, ictéricas e lipêmicas deve ser realizada com cautela, uma vez que tais características podem alterar a leitura do equipamento, dependendo da metodologia empregada (Paltrinieri, 2008; Cerón et al., 2005).

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus valores de referência de acordo com o kit utilizado e a espécie estudada.

### *Aplicações Clínicas em Humanos*

A concentração sérica em indivíduos saudáveis é de aproximadamente 0,8 mg/L (0,3 – 1,7), estando abaixo de 10 mg/L em 99% de amostras de pessoas sadias (Silva e Machado, 2005). Em neonatos, no primeiro e segundo dia de vida, o valor

normal da PCR é inferior a 10 mg/L e inferior a 5 mg/L após essa idade (Ceccon, 2008).

A PCR e a velocidade de hemossedimentação são os parâmetros mais rotineiramente utilizados para a quantificação clínica da resposta de fase aguda. A velocidade de hemossedimentação indica de forma indireta o aumento de proteínas de fase aguda, que neutralizam a carga elétrica externa da membrana das hemácias, facilitando seu empilhamento e sua sedimentação. Entretanto, apesar de ser um teste rápido e barato, pode sofrer influência de alguns fatores não relacionados à inflamação, e por isso vem sendo substituída pela dosagem de PCR e outras PFA (Voltarelli, 1994).

Seu uso em pacientes sépticos apresenta valores diretamente proporcionais ao insulto orgânico, mas ela não deve ser utilizada isoladamente para o diagnóstico de sepse, devendo-se sempre associá-la aos achados clínicos (Silva e Machado, 2005). Em neonatos, a sepse é uma das principais causas de morbi-mortalidade, devido à deficiente função imune celular e humoral e à imaturidade da barreira física constituída pela pele nesses pacientes. A dosagem de PCR merece destaque no diagnóstico e avaliação da terapia na sepse neonatal por ser mais fidedigna que a velocidade de hemossedimentação e por possibilitar maior precocidade diagnóstica do que culturas de microorganismos, que podem demorar de 48 horas até 7 dias. Esse parâmetro ganha especial destaque quando associado à mensuração de interleucina-6, aumentando sua sensibilidade e seu valor preditivo negativo. Recomenda-se que ela seja dosada no dia da suspeita diagnóstica e após, seriadamente, com 48 e 72 horas de evolução (Ceccon, 2008).

Além da medicina intensivista, a PCR é amplamente estudada também pela oncologia, mostrando-se um marcador diagnóstico e prognóstico importante em

pacientes com câncer ovariano, pancreático, colorretal, linfoma, mieloma múltiplo, carcinoma tímico e renal (Nielsen et al., 2007).

Gestantes apresentam PCR mais alta que não-gestantes. Valores muito altos, no entanto, associam-se à ocorrência e ao aumento da gravidade da pré-eclâmpsia, uma síndrome caracterizada pelo aumento da pressão arterial média e presença de proteinúria e relacionada a uma resposta inflamatória sistêmica exacerbada. Ainda não há uma definição se tal parâmetro deve ser utilizado para diagnóstico diferencial ou prognóstico, mas não há dúvidas de que seja um importante marcador dessa doença (Cabral et al., 2002). Ainda na área de obstetrícia, gestantes com PCR acima de 8mg/L no período da 5<sup>a</sup> à 19<sup>a</sup> semanas de gestação apresentaram um risco 2,55 vezes maior de induzir parto prematuro quando comparado com gestantes com valores de PCR inferiores (Pitiphat et al., 2005).

Com a recente descoberta de componentes inflamatórios na aterosclerose, a PCR foi considerada forte indicadora de risco vascular futuro (como infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral), tanto em indivíduos saudáveis (homens, mulheres, jovens e idosos) quanto naqueles que já apresentam a doença cardiovascular. A PCR está associada à gravidade e prognóstico da aterosclerose, sendo considerada um fator de risco independente para a doença arterial coronariana, com importância semelhante ao colesterol (Moura et al., 2006).

Os biomarcadores inflamatórios também são utilizados na avaliação do estado nutricional. Na desnutrição, a perda de massa magra, redução da ingestão energética, fadiga e depressão tendem a exacerbar os efeitos pró-inflamatórios; no entanto, a PCR pode estar aumentada ou diminuída, havendo ainda muitas controvérsias entre os autores e estudos com resultados contraditórios. No caso da obesidade, os relatos são mais consistentes, observando-se uma associação direta

entre aumento de peso corporal e níveis de marcadores inflamatórios. Valores elevados de PCR já foram relacionados à pacientes com sobrepeso e com índices aumentados de adiposidade total e abdominal. Já mulheres obesas que perderam peso apresentaram concomitantemente uma redução significativa dos valores da PCR. Esses resultados são indicativos de que a adiposidade, principalmente a visceral, parece promover um estado inflamatório crônico de baixa intensidade, já que o tecido adiposo sintetiza citocinas que participam do sistema pró-inflamatório (Geraldo et al., 2009). Esses dados ajudam a compreender porque indivíduos com sobrepeso ou obesos apresentam maior risco de doença aterosclerótica (Moura et al., 2006).

Além da síntese de citocinas, o tecido adiposo também apresenta atividade endócrina, sintetizando estrógenos, tanto em mulheres como em homens. Existe uma associação importante entre os hormônios sexuais e o comportamento da PCR, bem como outros marcadores inflamatórios (Geraldo et al., 2009). Com relação aos hormônios endógenos femininos, níveis elevados de progesterona (tanto na gravidez quanto no ciclo menstrual), estrona (estrógeno predominante nas mulheres menopausadas) e androstenediona (andrógeno, principal precursor de testosterona na circulação periférica das mulheres em idade adulta) cursam com valores elevados de PCR. O mesmo ocorre com mulheres menopausadas ou usuárias de anticoncepcionais que recebem hormônios exógenos por via oral, como o estradiol e outros estrógenos conjugados (com ou sem progestina). Acredita-se que essa ação do estrógeno oral esteja relacionada à ativação metabólica do fígado (talvez por uma interferência indireta na expressão gênica de proteínas como a PCR), em vez de uma resposta inflamatória. Por outro lado, o tamoxifeno, um anti-estrogênico bastante utilizado na terapia adjuvante do câncer de mama, reduz os valores dessa

proteína (Folsom et al., 2005). Nos homens de meia idade e idosos, valores elevados de estradiol tiveram forte associação com PCR aumentada em pesquisa realizada por Pour et al. (2007), não sendo, entretanto, um resultado comum a outros trabalhos semelhantes, que não demonstraram essa correlação (Kupelian et al., 2009). O estradiol é um metabólito da testosterona, que nos homens é originado em sua maioria (80%) a partir de tecidos periféricos, sobretudo o adiposo. Com relação aos andrógenos, já é bem estabelecido que apresentam efeito imunossupressor, e nesse sentido, desconfia-se que a testosterona em níveis elevados possa exercer atividade anti-inflamatória. Kupelian et al. (2009) relacionaram valores reduzidos de testosterona a aumento da PCR.

A forma monomérica da PCR (neo-PCR) pode aparecer em grande quantidade na urina de pacientes submetidos a transplante renal, alcançando níveis observados somente no soro (a concentração protéica total na urina raramente ultrapassa 20% da concentração sérica), e sendo um forte indicativo de rejeição. O mecanismo pelo qual essa excreção ocorre ainda não foi completamente esclarecido, mas desconfia-se que seja uma efusão do parênquima renal, uma vez que a filtração glomerular nesses pacientes é praticamente inexistente. Supõe-se que a neo-PCR seja sintetizada por células imunocompetentes no rim durante a reação de fase aguda, como por exemplo, os linfócitos do sangue periférico (Ruleva et al., 2003).

Curiosamente, valores elevados de PCR foram indicativos de um bom prognóstico em pacientes com a síndrome da angústia respiratória aguda (SARA). Bajwa et al. (2009) relacionaram altos índices plasmáticos de PCR a maiores taxas de sobrevivência, menor ocorrência de falência orgânica e menor tempo de permanência na ventilação mecânica em 177 pacientes que apresentavam SARA há 48 horas.



Lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide e esclerose sistêmica são outros exemplos de morbidades cujo diagnóstico pode ser favorecido pela dosagem de PCR; a tabela 2 mostra mais algumas doenças já relatadas. As aplicações desse parâmetro são realmente inúmeras, sendo difícil abordar todas. O que existe em comum entre essas doenças é o componente inflamatório, seja ele exacerbado ou leve, agudo ou crônico, porém, geralmente sistêmico. Compreendendo a biodinâmica da PCR é possível deduzir em que situações ela pode se alterar e a quais doenças ela pode estar associada.

Tabela 2 – Graus de elevação da PCR em humanos em diferentes condições.

Normal ou insignificante (<10mg/L)	Moderada (10-100mg/L)	Proeminente (>100mg/L)
Exercício intenso	Infarto do Miocárdio	Infecção bacteriana aguda
Resfriado comum	Neoplasia	Queimadura ou trauma
Gravidez	Pancreatite	extenso
Gengivite	Infecção de mucosas	Vasculite sistêmica
Convulsão	(bronquite, cistite)	
Acidente Vascular Cerebral	Colagenose	
Angina		

Fonte: Voltarelli (1994)

### *Aplicações Clínicas em Cães*

Os valores fisiológicos da PCR em cães normalmente se mantêm menores que 5mg/L (Caspi et al., 1984). Otabe et al. (1998) coletaram amostras de 10 cães saudáveis da raça beagle, machos e fêmeas, com idade variando entre 1 e 2 anos, ao longo de 24 horas (7 vezes ao dia) e no decorrer de 4 semanas (3 vezes por semana) e obtiveram valores médios compatíveis com aquele citado por Caspi et al. (1984). Nesse mesmo experimento, também foi observado que a concentração de PCR permanece estável ao longo do dia, não apresentando variações devido ao

ciclo circadiano. Esse fato merece especial destaque nos casos em que há necessidade de colheitas seriadas para avaliar a eficácia da terapia instituída. Apesar da PCR não variar durante dosagens de um mesmo cão (variações intra-individuais), ela pode apresentar valores diferentes entre os cães (variações inter-individuais), o que deve ser levado em consideração ao utilizar esse parâmetro na avaliação de condições mórbidas (Otabe et al., 1998). Isso foi observado no experimento de Nielsen et al. (2007), já citado anteriormente.

Valores elevados de PCR já foram relacionados a doenças infecciosas (leishmaniose, leptospirose, bordetelose, erliquiose, parvovirose), trauma cirúrgico, neoplasias malignas, doenças inflamatórias (doença intestinal inflamatória, alergias), auto-imunes, endócrinas e metabólicas (Nakamura et al., 2008; Nielsen, 2007).

Em cadelas com piometra, por exemplo, a concentração de PCR aumentou em até 30 vezes em comparação com valores encontrados em cadelas normais. Nesse mesmo estudo, as cadelas foram acompanhadas por um período de 17 dias após o procedimento cirúrgico, mostrando valores continuamente decrescentes de PCR e comprovando, assim, um pós-operatório sem maiores intercorrências (Dabrowski et al., 2007). Fransson et al. (2004) testaram a dosagem de PCR como critério adicional na diferenciação entre piometra e hiperplasia endometrial cística. Os autores observaram que, ao se associar a PCR à contagem diferencial de leucócitos (sobretudo a porção neutrofílica), obtinha-se alta sensibilidade para diagnosticar a piometra, porém baixa especificidade (75%), o que permitiria resultados falso-positivos. Nessa mesma associação, a fosfatase alcalina mostrou resultados inversos ao da contagem de leucócitos, ou seja, maior especificidade e menor sensibilidade. Ao decidir pela realização ou não da cirurgia, uma alta sensibilidade (possibilidade de um animal doente estar mesmo doente) é certamente mais útil ao

cirurgião, pois é preferível submeter uma cadela com HEC à cirurgia do que deixar de fazê-lo em uma com piometra. Nesse estudo também foi observada alta variação individual entre os valores de PCR, como já relatado por outros pesquisadores, demonstrando que se devem evitar conclusões definitivas a partir de um único teste, sobretudo sem associá-lo a parâmetros clínicos e a outros testes laboratoriais.

Gebhardt et al. (2009) se utilizaram desse parâmetro para prever a sobrevivência de cães com síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS) e sepse. Os cães foram monitorados durante 14 dias, e amostras de sangue coletadas nos dias 0, 1 e 2. De 61 animais, 48 foram incluídos no grupo sepse e 13 no grupo SRIS. Foram considerados sobreviventes aqueles que permaneceram vivos durante o período de estudo, totalizando 37 animais (61%). Entre os não sobreviventes (n=24), 4 eram do grupo SRIS e 20, do grupo sepse. Alterações na concentração sérica de PCR entre os dias 0 e 2 foram observadas em 41 dos 61 animais. Entre os cães que apresentaram queda nos níveis de PCR (31/41; 76%), apenas 10% não sobreviveram e eram do grupo sepse. Os sobreviventes apresentaram um decréscimo significativo da PCR em relação ao grupo não sobrevivente. Essa pesquisa mostrou a alta mortalidade em pacientes sépticos e a utilidade da PCR como ferramenta prognóstica, sobretudo em exames seriados. Os autores sugerem, no entanto, que a dosagem de PCR seja associada a outros parâmetros preditores de sobrevida, além do exame clínico e parâmetros hematológicos e bioquímicos, e deixam claro que ela não é adequada quando considerada isoladamente.

Durante a gestação esse parâmetro também pode mostrar-se elevado, havendo algumas possíveis explicações para esse fato: interferência dos hormônios gestacionais sobre a dinâmica das proteínas da fase aguda (Kuribayashi et al., 2003), resposta inflamatória à implantação do embrião (Almeida, 2006) ou devido ao

desenvolvimento placentário. Durante as fases do ciclo estral (pró-estro, estro, diestro e anestro), não há diferença na concentração da PCR (Ulutas et al., 2009).

Em fêmeas com neoplasias mamárias, a ocorrência de metástase, tamanho do tumor primário e ulceração ou inflamação da massa estimulam a resposta de fase aguda, elevando os valores de PCR. Os valores mais significativos foram observados em animais que já apresentavam metástase ou com tumores com diâmetro superior a cinco centímetros e ulcerados (Tecles et al., 2009).

Em cães com linfoma multicêntrico, Nielsen et al. (2007) utilizaram a PCR para monitorar a remissão da doença durante a quimioterapia. Os autores escolheram esse marcador por não sofrer alteração após a administração de corticosteróides, rotineiramente incluídos nos protocolos quimioterápicos. Os cães foram divididos em 4 categorias de resposta à quimioterapia, de acordo com o tamanho do tumor observado em cada retorno para uma nova sessão: remissão completa, remissão parcial, doença estável e doença progressiva. A concentração de PCR apresentou-se significativamente menor (com relação à dosagem antes do tratamento) em cães que apresentaram remissão completa do tumor, porém, não foi capaz de distinguir as outras categorias de resposta à quimioterapia. Os autores sugerem, baseando-se em estudos na medicina, que esse parâmetro seja associado a outros marcadores, como interleucinas, lactato desidrogenase e fator de necrose tumoral.

A PCR também já foi relacionada à anemia hemolítica imunomediada em cães. A concentração da PCR foi mensurada em 30 animais antes e durante o tratamento da doença, que foram divididos em dois grupos, de acordo com o tempo de sobrevivência. Os valores apresentaram-se elevados em todos os cães antes de qualquer intervenção e foram reduzindo no decorrer dos dias, durante a terapia. Apenas um cão apresentou níveis continuamente elevados, que foram relacionados ao

desenvolvimento de necrose esplênica. A concentração de PCR, portanto, reduziu de forma significativa após a introdução do tratamento, mas não apresentou correlação com o tempo de sobrevivência desses animais (Griebsch et al., 2009).

A babesiose é bastante semelhante à malária em humanos, sendo considerada uma “sepsis por protozoários”, podendo levar à síndrome da resposta inflamatória sistêmica e à falência orgânica múltipla. Cães naturalmente infectados com *Babesia canis* apresentaram valores de PCR significativamente maiores que animais do grupo controle, e um cão que apresentava uma forma bastante severa da doença foi o que apresentou o valor mais alto. Isso não foi demonstrado estatisticamente devido ao reduzido número de animais desse experimento (n=7), mas, em outro estudo, a severidade da babesiose mostrou-se diretamente proporcional à concentração de PCR (Ulutas et al., 2005).

Cães experimentalmente inoculados com *Ehrlichia canis* foram acompanhados durante 90 dias. A concentração de PCR começou a se elevar entre os dias 4 e 16, com picos ocorrendo entre os dias 15 e 42. A elevação dessa PFA ocorreu em período semelhante ao do aparecimento dos anticorpos (entre 5 e 15 dias após a inoculação). O aumento da PCR foi mais lento do que o observado em infecções bacterianas, por exemplo, o que pode ser explicado por se tratar de um microorganismo intracelular. Sendo assim, é possível que o aumento da PCR só comece a ocorrer durante a multiplicação da *Ehrlichia canis* na circulação. Após o pico, a concentração desse marcador tende a cair rapidamente (Shimada et al., 2002).

Martínez-Subiela et al. (2003) utilizaram a mensuração de PCR para comparar dois tratamentos utilizados na leishmaniose de ocorrência natural em cães

(*Leishmania infantum*), encontrando valores significativamente decrescentes em ambos os grupos.

Cães inoculados com *Bordetella bronchiseptica* intrabronquialmente apresentaram aumento importante de PCR no mesmo dia da inoculação, sendo que os anticorpos foram detectados apenas 5 dias mais tarde. Nesse mesmo estudo, um grupo de animais foi tratado com prednisolona, que não influenciou na concentração da PCR (Yamamoto et al., 1997), concordando com os resultados obtidos por Martínez-Subiela et al. (2004) (citado por Caldin et al., 2009).

Na leptospirose ocorre um estímulo à liberação de citocinas pela espiroquetas, que apresentam tropismo por diversos tecidos, ocasionando uma resposta de fase aguda e muitas vezes levando à síndrome da resposta inflamatória sistêmica. Mastrorilli et al. (2007) observaram aumento na concentração da PCR e da haptoglobina, sendo que a razão PCR/haptoglobina foi significativamente maior em não sobreviventes do que nos sobreviventes. Como a PCR aumenta e atinge seu pico plasmático mais rapidamente que a haptoglobina (1 a 2 dias, contra 3 a 7 dias), esse resultado pode indicar um curso mais curto da doença nos animais que vieram a óbito.

A PCR também aumenta substancialmente em animais com pancreatite aguda espontânea e regride em caso de resposta positiva à terapia instituída. Foi o que Holm et al. (2004) observaram em 6 de 7 cães acompanhados ao longo de 5 dias, com dosagens realizadas nos dias 1, 3 e 5. Em apenas 1 cão a PCR se elevou nesse período, mas os autores não explicaram tal ocorrência. Possivelmente se trata de uma variação individual, já que todos os animais apresentaram melhora clínica. Devido à pequena amostragem utilizada nesse estudo os autores não puderam relacionar a PCR à gravidade da doença, mas citaram uma pesquisa realizada por

Spillmann et al. (2002) que revelou valores significativamente maiores em cães com pancreatite aguda severa (com necrose pancreática associada) do que nos cães com pancreatite moderada (intersticial / edematosa), demonstrando o valor prognóstico desse parâmetro nessa doença.

A doença intestinal inflamatória (DII) canina é um distúrbio gastrintestinal crônico de causa desconhecida, manifestada por sinais como vômito e diarreia, cuja diversidade dificulta a avaliação dos efeitos da terapia sobre a atividade inflamatória. Por esse motivo, Jergens et al. (2003) relacionaram a dosagem de proteínas de fase aguda à atividade clínica da doença, avaliada pelo escore já estabelecido CIBDAI ("Canine Intestinal Bowel Disease Activity Index"). Comparativamente ao grupo controle, a PCR mostrou-se elevada no grupo de animais com DII, sendo esse aumento proporcional à severidade da doença, de acordo com o CIBDAI. Com a evolução do tratamento, tanto o índice CIBDAI como a concentração de PCR diminuíram. Ainda são necessários mais estudos, incluindo um grupo com DII que não seja tratado, para diferenciar a resposta inicial à terapia de flutuações espontâneas da doença, que tende a alternar estados de atividade e quiescência. Apesar disso, a PCR pode ser considerada um importante parâmetro para a avaliação prognóstica do tratamento instituído, sobretudo por estar em concordância com os achados clínicos e por ser um método não-invasivo, diferente, por exemplo, de uma biopsia (Jergens et al., 2003).

Proteínas de fase aguda também são úteis no diagnóstico e manejo da meningite-arterite responsiva aos esteróides, uma doença inflamatória, possivelmente de origem imunomediada, que ocorre geralmente em cães jovens de raças médias a grandes, como Beagles, Berneses e Boxers. Os achados mais comuns nessa enfermidade incluem vasculite das artérias meningeanas, inflamação não-suprativa

no líquido e arterite coronariana subclínica, manifestados por sinais como hiperestesia cervical, febre e letargia. O diagnóstico baseia-se nos achados do exame físico, achados laboratoriais (principalmente leucograma e exame do líquido) e exclusão de outras doenças. Lowrie et al. (2009) determinaram a concentração da PCR em 20 cães durante os diferentes estágios da doença (apresentação, remissão, resolução e recidiva). Os valores apresentaram correlação significativamente positiva com a contagem total de células nucleadas do líquido, decrescendo continuamente nas três primeiras fases e voltando a aumentar na recidiva. A PCR mostrou-se, inclusive, mais sensível que o exame do líquido, pois permaneceu elevada durante a fase de remissão, enquanto o outro exame já apresentava valores dentro dos limites considerados normais. Isso mostrou aos autores que o tratamento inicial imunossupressor com corticosteróides (no caso, prednisolona) suprime, mas não elimina a inflamação, já que a PCR permaneceu elevada, diferente dos marcadores inflamatórios do líquido.

Bayramli e Ulutas (2008) avaliaram o potencial diagnóstico e o comportamento de proteínas de fase aguda em lesões gástricas induzidas por ácido acetilsalicílico em 10 cães. A PCR elevou-se significativamente no primeiro dia após a administração do fármaco, e no quarto e sétimo dias já apresentava menores concentrações. Não se observou correlação entre a concentração das PFA e o número de lesões na mucosa observadas endoscopicamente. A mucosa e a submucosa do trato gastrointestinal contêm um grande número de leucócitos, que em caso de dano tecidual liberam citocinas inflamatórias (como FNT, IL-1, IL-6), interferindo na concentração das PFA e explicando o aumento importante observado no primeiro dia. O declínio observado nos dias 4 e 7 pode ser relacionado à curta meia-vida plasmática tanto do ácido acetilsalicílico (6-8 horas) como das PFA. Os autores



concluíram que a dosagem de proteínas de fase aguda pode ser associada à gastroscopia e ao leucograma, auxiliando na monitoração de lesões gástricas.

Caldin et al. (2009) pesquisaram a resposta de fase aguda em cães com hiperadrenocorticismo (HA) espontâneo com e sem doenças inflamatórias associadas. Os animais foram divididos em 4 grupos (saudáveis, com HA, com HA e em sepse, sem HA e em sepse). Não houve diferença significativa na concentração de PCR entre os dois primeiros grupos. Nos dois grupos de cães em sepse a PCR mostrou-se bastante elevada, porém esse aumento foi significativamente maior no grupo de cães sem HA do que nos com HA, o que sugere um efeito inibidor dos glicocorticóides endógenos sobre a síntese de PCR (Caldin et al., 2009).

Sabe-se que humanos obesos apresentam valores elevados dessa proteína, mas Veiga et al. (2008) encontraram valores contrários em cães obesos, estando a concentração de PCR abaixo daquela observada em cães dentro do peso ideal. O motivo desses resultados permanece indeterminado, mas os autores acreditam em diferenças metabólicas entre as espécies, mesmo sendo as duas proteínas consideradas análogas.

Visando investigar a capacidade da PCR de diferenciar a composição de líquidos cavitários, sua concentração foi medida em efusões (abdominais, pleurais e pericárdicas) de 50 cães pelo método de imunofluorometria. Os derrames foram classificados em transudatos, transudatos modificados ou exsudatos de acordo com a concentração de proteínas totais, contagem de células nucleadas, achados citológicos e etiologia. Houve diferenças significativas entre as concentrações de PCR nos três tipos de derrames, sendo que no exsudato foram observadas as concentrações mais elevadas, nos transudatos as mais baixas, e nos transudatos modificados, concentrações intermediárias. Os autores concluíram que a PCR pode

ser um teste diagnóstico adicional na diferenciação dos líquidos cavitários, já que os parâmetros mais utilizados para esse fim (concentração total de proteína e contagem/diferenciação de células nucleadas) podem resultar em interpretações diferentes de acordo com a referência consultada (Parra et al., 2006).

## **CONCLUSÃO**

A descoberta da PCR é ainda considerada recente do ponto de vista científico, o que justifica a grande quantidade de questões não esclarecidas, principalmente com relação à sua dinâmica no organismo do cão. Sua atual contribuição à rotina da clínica médica e cirúrgica é inegável, o que deve servir como um estímulo aos pesquisadores para que todo o seu potencial possa ser descoberto e utilizado em prol da medicina veterinária. A determinação da concentração da PCR identifica precocemente processos inflamatórios/infecciosos e correlaciona seus resultados à resposta terapêutica. A maior abrangência de estudos com PCR no campo veterinário fornece ao clínico mais uma ferramenta diagnóstica, sobretudo no manejo do paciente crítico. Sua dosagem deve ser incentivada e amplificada, visando o uso rotineiro em hospitais e clínicas veterinárias e aumentando as possibilidades de cura de pacientes graves.

## REFERÊNCIAS

ABERNETHY, T.J.; AVERY, O.T. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. I. Distribution of the reactive protein in patients' sera and the effect of calcium on the flocculation reaction with C polysaccharide of pneumococcus. **Journal of Experimental Medicine**. n.73, p.173-182, 1941.

ALMEIDA, A.H. **Dinâmica de proteínas de fase aguda e mensurações ultrasonográficas no conceito durante o período gestacional em cadelas da raça boxer**. 2006. São Paulo, 111f. Dissertação (Doutorado em Ciências) – Curso de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

ANDRIOLO, A.; COSTA, R.P.; NOVO, N.F. Pró-calcitonina e proteína C reativa em processos infecciosos graves. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial**. v.40, n.3, p.169-174, 2004.

BAJWA, E.K.; KHAN, U.A.; JANUZZI, J.L.; GONG, M.N.; THOMPSON, B.T.; CHRISTIANI, D.C. Plasma C-reactive protein levels are associated with improved outcome in ARDS. **Chest**. Aug,136(2), p.471-80, 2009.

BAYRAMLI, G.; ULUTAS, B. Acute phase response in dogs with experimentally induced gastric mucosal injury. **Veterinary Clinical Pathology**. v.37(3), p.312-316, 2008.

CABRAL, A.C.V.; LÁZARO, J.F.; VITRAL, Z.N.R. Concentração Sérica Materna da Proteína C Reativa em Gestações Complicadas pela Pré-eclâmpsia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. v.24, n.1, 2002.

CALDIN, M.; TASCA, S.; CARLI, E.; BIANCHINI, S.; FURLANELLO, T.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Serum acute phase protein concentrations in dogs with hyperadrenocorticism with and without concurrent inflammatory conditions. **Veterinary Clinical Pathology**. 38(1), p.63-68, 2009.

CASPI, D.; BALTZ, M.; SNEL, F.; GRUYS, E.; NIV, D.; BATT, R. M.; MUNN, E. A.; BUTTRES, N.; PEPYS, M. B. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. **Immunology**. v.53, p.307-313, 1984.

CECCON, M.E.J.R. Novas Perspectivas na Sepse Neonatal. **Pediatria (São Paulo)**. 30(4), p.198-202, 2008.

CERÓN, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute Phase Proteins in Dogs and Cats. **Veterinary Clinical Pathology**. v.34(2), 2005.

DABROWSKI, R.; WAWRON, W.; KOSTRO, K. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariohysterectomy in healthy bitches and those with pyometra. **Theriogenology**. v.67, p.321-327, 2007.

DIEHL, E.E.; HAINES, G.K.; RADOSEVICH, J.A.; POTEMPA, L.A. Immunohistochemical localization of modified C-reactive protein antigen in normal vascular tissue. **American Journal of Medical Science**. v.319, n.2, p.79-83, 2000.

DILLMAN, R.C.; COLES, E.H. A canine serum fraction analogous to human C-reactive protein. **American Journal of Veterinary Research**. v.27, p.1769-75, 1966.

DONG, Q.; WRIGHT, J.R. Expression of C-reactive protein by alveolar macrophages. **Journal of immunology**. v.156(12), 4815-4820, 1996.

FOLSOM, A.R.; GOLDEN, S.H.; BOLAND, L.L.; SZKLO, M. Association of endogenous hormones with C-reactive protein, fibrinogen, and White blood count in post-menopausal women. **Endocrine Epidemiology (European Journal of Epidemiology)**. v.20, p.1015-1022, 2005.

FRANSSON, B.A.; KARLSTAM, E.; BERGSTROM, A.; LAGERSTEDT, A.S.; PARK, J.S.; EVANS, M.A.; RAGLE, C.A. C-reactive Protein in the Differentiation of Pyometra From Cystic Endometrial Hyperplasia/Mucometra in Dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**. September/October, v.40, p.391-399, 2004.

GEBHARDT, C.; HIRSCHBERGER, J.; RAU, S.; ARNDT, G.; KRÄINER, K.; SCHWEIGERT, F.J.; BRUNNBERG, L.; KASPERS, B.; KOHN, B. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.19, n.5, p.450-458, 2009.

GERALDO, J.M.; COSTA, J.A.; PRIORE, S.E.; ALFENAS, R.C.G.; FRANCESCHINI, S.C.C. Utilização de Biomarcadores Inflamatórios para Avaliação do Estado Nutricional. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. 24(1), p.40-45, 2009.

GRIEBSCH, C.; ARNDT, G.; RAILA, J.; SCHWEIGERT, F.J.; KOHN, B. C-reactive protein concentration in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. **Veterinary Clinical Pathology**. Aceito para publicação, 2009.

HOLM, J.L.; ROZANSKI, E.A.; FREEMAN, L.M.; WEBSTER, C.R.L. C-reactive protein concentrations in acute pancreatitis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.14(3), p.183-186, 2004.

JERGENS, A.E.; SCHREINER, C.A.; FRANK, D.E.; NIYO, Y.; AHRENS, F.E.; ECKERSALL, P.D.; BENSON, T.J.; EVANS, R. A Scoring Index for Disease Activity in Canine Inflammatory Bowel Disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.17, p.291-297, 2003.

KAJIKAWA, T.; FURUTA A.; ONISHI T.; TAJIMA, T.; SUGII, S. Changes in concentrations of serum amyloid A protein, alpha-1-acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.68, p.91-98, 1999.

KUPELIAN, V.; CHIU, G.R.; ARAUJO, A.B.; WILLIAMS, R.E.; CLARK, R.V.; McKINLAY, J.B. Association of sex hormones and C-reactive protein levels in men. **Clinical Endocrinology (Oxford)**. September, 2009.

KURIBAYASHI, T.; SHIMADA, T.; MATSUMOTO, M.; KAWATO, K.; HONJYO, T.; FUKUYAMA, M.; YAMAMOTO, Y.; YAMAMOTO, S. Determination of Serum C-Reactive Protein (CRP) in Healthy Beagle Dogs of Various Ages and Pregnant Beagle Dogs. **Experimental Animals**. v.52(5), p.387-390, 2003.

LOWRIE, M.; PENDERIS, J.; McLAUGHLIN, M.; ECKERSALL, P.D.; ANDERSON, T.J. Steroid Responsive Meningitis-Arteritis: A Prospective Study of Potential Disease Markers, Prednisolone Treatment, and Long-Term Outcome in 20 Dogs (2006-2008). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.23, p.862-870, 2009.

MacLEOD, C.M.; AVERY, O.T. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. II. Isolation and properties of the reactive protein. **Journal of Experimental Medicine**. n.73, p.183-190, 1941a.

MacLEOD, C.M.; AVERY, O.T. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood. III. Immunological properties of the C-reactive protein and its differentiation from normal blood proteins. **Journal of Experimental Medicine**. n.73, p.191-200, 1941b.

MANTOVANI, A.; GARLANDA, C.; DONI, A.; BOTAZZI, B. Pentraxins in Innate Immunity: From C-Reactive Protein to the Long Pentraxin PTX3. **Journal of Clinical Immunology**. n.28, p.1-13, 2008.

MARSHALL, J.C.; VINCENT, J-L.; FINK, M.P.; COOK, D.J.; RUBENFELD, G.; FOSTER, D.; FISHER, C.J.; FAIST, E.; REINHART, K. Measures, markers, and mediators: Toward a staging system for clinical sepsis. A Report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable, Toronto, Ontario, Canada, October 25-26, 2000. **Critical Care Medicine**. v.31, n.5, 2003.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; PARRA, M.D.; CERÓN, J.J. Proteínas de Fase Aguda: Conceptos Básicos y Principales Aplicaciones Clínicas en Medicina Veterinaria. **Anales de Veterinaria de Murcia**. v.17, p.97-114, 2001.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; BERNAL, L.J.; CERÓN, J.J. Serum concentrations of acute-phase proteins in dogs with leishmaniosis during short-term treatment. **American Journal of Veterinary Research**. v.64, n.8, p.1021-1026, 2003.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; GINEL, P.J.; CERON, J.J. Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs. **Veterinary Record**. 154, p.814-817, 2004.

MASTRORILLI, C.; DONDI, F.; AGNOLI, C.; TURBA, M.E.; VEZZALI, E.; GENTILINI, F. Clinicopathologic Features and Outcome Predictors of *Leptospira interrogans* Australis Serogroup Infection in Dogs: A Retrospective Study of 20 Cases (2001-2004). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.21, p.3-10, 2007.

MAUDSLEY, S.; PEPYS, M.B. Immunochemical cross-reactions between pentraxins of different species. **Immunology**. v.62, p.17-22, 1987.

MOURA, P.A.; SILVA TORRES, V.I.; MARREIRO, D.N.; LOBÃO, A.; SOUSA, S.S.R.; MENDES FILHO, J.L. Concentrações séricas de fibrinogênio e de proteína C reativa como biomarcadores inflamatórios na predição de risco da doença aterosclerótica em pacientes com sobrepeso. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**. v.21, n.1, p.290-295, 2006.

NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, M.; OHNO, K.; KOSHINO, A.; NAKASHIMA, K.; SETOGUCHI, A.; FUJINO, Y.; TSUJIMOTO, H. C-Reactive Protein Concentration in dogs with Various Diseases. **Journal of Veterinary Medicine Science**. v.70(2), p.127-131, 2008.

NIELSEN, L.; TOFT, N.; ECKERSALL, D.; MELLOR, D.J.; MORRIS, J.S. Serum C-Reactive Protein Concentration as an Indicator of Remission Status in Dogs with Multicentric Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.21, p.1231-1236, 2007.

OTABE, K.; SUGIMOTO, T.; JINBO, T.; HONDA, M.; KITAO, S.; HAYASHI, S.; SHIMIZU, M.; YAMAMOTO, S. Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera. **Veterinary Research Communications**. v.22(2), p.77-85, 1998.

PALTRINIERI, S. The feline acute phase reaction. **The Veterinary Journal**. v.177, p.26-35, 2008.

PARK, W.B.; LEE, K.; LEE, C.S.; JANG, H.C.; KIM, H.B.; LEE, H.; OH, M.; CHOE, K.W. Production of C-reactive protein in *Escherichia coli*-infected patients with liver dysfunction due to liver cirrhosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. 51, p.227-230, 2005.

PARRA, M.D.; PAPASOULIOTIS, K.; CERÓN, J.J. Concentrations of C-reactive protein in effusions in dogs. **The Veterinary Record**. v.158, p.753-757, 2006.

PEPYS, M.B.; BATLZ, M.L. Acute phase proteins with special reference to C-reactive protein and related proteins (pentraxins) and serum amyloid A protein. **Advances in Immunology**. v.34, p.141-212, 1983.

PITIPHAT, W.; GILLMAN, M.W.; JOSHIPURA, K.J.; WILLIAMS, P.L.; DOUGLASS, C.W.; RICH-EDWARDS, J.W. Plasma C-Reactive Protein in Early Pregnancy and Preterm Delivery. **American Journal of Epidemiology**. v.162, n.11, p.1108-1113, 2005.

POSEN, R.; DeLEMONS, R.A. C-reactive protein levels in the extremely premature infant: case studies and literature review. **Journal of Perinatology**. v.18(2), p.138-141, 1998.

POUR, H.R.N.; GROBBEE, D.E.; MULLER, M.; SCHOUW, Y.T. Association of endogenous sex hormone with C-reactive protein levels in middle-aged and elderly men. **Clinical Endocrinology (Oxford)**. v.66, p.394-398, 2007.

RULEVA, N.Y.; LYUKOVA, T.K.; TARABARKO, N.V.; KOMOLOV, I.S.; DOMOGATSKII, S.P. Structure of C-reactive protein excreted in urine during acute rejection episodes. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. v.135, n.3, p.291-293, 2003.

SHARMA, A.; KUTTY, C.V.K.; SUBHARWAL, U.; RATHI, S.; MOHAN, H. Diagnostic and prognostic role CRP and M-ESR in neonatal septicemia. **Indian Pediatrics**. v.30, n.3, p.347-350, march, 1993.

SHIMADA, T.; ISHIDA, Y.; SHIMIZU, M.; NOMURA, M.; KAWATO, K.; IGUCHI, K.; JINBO, T. Monitoring C-reactive Protein in Beagle Dogs Experimentally Inoculated with *Ehrlichia canis*. **Veterinary Research Communications**. v.26, n.3, p.171-177, 2002.

SHRIVE, A.K.; CHEETHAM, G.M.T.; HOLDEN, D.; MYLES, D.A.A.; TURNELL, W.G.; VOLANAKIS, J.E.; PEPYS, M.B.; BLOOMER, A.C.; GREENHOUGH, T.J. Three dimensional structure of human C-reactive protein. **Nature Structural Biology**. v.3, n.4, 1996.

SIERRA, R.; RELLO, J.; BAILÉN, M.A.; BENÍTEZ, E.; GORDILLO, A.; LEÓN, C.; PEDRAZA, S. C-reactive protein used as an early indicator of infection in patients with systemic inflammatory response syndrome. **Intensive Care Medicine**. v.30, p.2038-2045, 2004.

SILVA, A.V.R.; MACHADO, F.S. Procalcitonina e Proteína C Reativa como Indicadores de Sepse. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. v.17(3), Julho/Setembro, 2005.

SILVESTRE, J.; PÓVOA, P.; COELHO, L.; ALMEIDA, E.; MOREIRA, P.; FERNANDES, A.; MEALHA, R.; SABINO, H. Is C-reactive protein a good prognostic marker in septic patients? **Intensive Care Medicine**. v.35, p.909-913, 2009.

SPILLMANN, T.; KORRELL, J.; WITTKER, A.; BÖRNGEN, S.; KRÜGER, M. Serum canine pancreatic elastase and canine C-reactive protein for the diagnosis and prognosis of acute pancreatitis in dogs (Abstract). **Journal of Veterinary Internal Medicine**. 16(5), p.635, 2002.

TECLES, F.; CALDÍN, M.; ZANELLA, S.; MEMBIELA, F.; TVARIJONAVICIUTE, A.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; CERÓN, J.J. Serum acute phase protein concentrations in female dogs with mammary tumors. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.21, p.214-219, 2009.

TIZARD, I. Consequências fisiológicas e patológicas das respostas imunitárias. In \_\_\_\_\_. **Introdução à Imunologia Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca, 1985. Cap.8, p.99-110.

TILLET, W.; FRANCIS, T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus. **Journal of Experimental Medicine**. n.52, p.561-571, 1930.



ULUTAS, P.A.; MUSAL, B.; KIRAL, F.; BILDIK, A. Acute phase protein levels in pregnancy and oestrus cycle in bitches. **Research in Veterinary Science**. v.86, p.373-376, 2009.

ULUTAS, B.; BAYRAMLI, G.; ULUTAS, P.A.; KARAGENC, T. Serum concentration of some acute phase proteins in naturally occurring canine babesiosis: a preliminary study. **Veterinary Clinical Pathology**. v.34, n.2, 2005.

VEIGA, A.P.M.; PRICE, C.A.; OLIVEIRA, S.T.; SANTOS, A.P.; CAMPOS, R.; BARBOSA, P.R.; GONZÁLEZ, F.H.D. Association of canine obesity with reduced serum levels of C-reactive protein. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.20, p.224-228, 2008.

VERMA, S.; KULISZEWSKI, M.A.; LI, S.H.; SZMITKO, P.E.; ZUCCO, L.; WANG, C.H.; BADIWALA, M.V.; MIKLE, D.A.G.; WEISEL, R.D.; FEDAK, P.W.M.; STEWART, D.J.; KUTRYK, M.J.B. C-Reactive Protein Attenuates Endothelial Progenitor Cell Survival, Differentiation, and Function. **Circulation**. v.109, p.2058-2067, 2004.

VIGO, C. Effect of C-reactive protein on platelet-activating factor-induced platelet aggregation and membrane stabilization. **The Journal of Biological Chemistry**. v.260, n.6(25), p.3418-3422, 1985.

VOLTARELLI, J.C. Febre e Inflamação. **Medicina, Ribeirão Preto**. v.27, n.1/2, p.7-48, Janeiro/Junho, 1994.

WEB SITE [http://www.expasy.org/spotlight/back\\_issues/030/](http://www.expasy.org/spotlight/back_issues/030/), Autor: Fabrice David, SIB Geneva, Proteinspotlight. Acesso em: 7 de dezembro de 2010.

YAMAMOTO, S.; MIYAJI, S.; ABE, N.; OTABE, K.; FURUKAWA, E.; NAIKI, M. Canine C-reactive protein (CRP) does not share common antigenicity with human CRP. **Veterinary Research Communications**. v.17, n.4, p.259-266, 1993.

YAMAMOTO, S.; SHIDA, T.; HONDA, M.; ASHIDA, Y.; RIKIHISA, Y.; OKADURA, M.; HAYASHI, S.; NOMURA, M.; ISAYAMA, Y. Serum C-reactive protein and immune responses in dogs inoculated with Bordetella bronchiseptica (phase I cells). **Veterinary Research Communications**. v.18(5), p.347-357, 1994.

#### 4. CAPÍTULO 3: Apresentação de Resultados

##### PROTEÍNA C REATIVA E OUTROS PARÂMETROS LABORATORIAIS EM CADELAS SAUDÁVEIS E COM PIOMETRA ASSOCIADA À SRIS/SEPSE

*(C-Reactive Protein and others Laboratory Parameters in Healthy Bitches and those  
with Pyometra Associated to SIRS/Sepsis)*

**RESUMO** – A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado em situações de lesão tissular ocasionada pelos mais diversos fatores. Em cães, níveis elevados dessa proteína geralmente estão correlacionados à extensão e atividade da doença, bem como valores sucessivamente decrescentes indicam boa resposta à terapêutica empregada. Sua alta concentração já foi relacionada a diversas doenças e condições inflamatórias em geral, como na piometra, correlacionando-se a um maior tempo de permanência hospitalar. Em animais saudáveis mantém valores menores e não apresenta variações ao longo do dia ou da fase do ciclo estral. Os objetivos desse trabalho foram definir e comparar valores de proteína C reativa (PCR) em cadelas saudáveis e com piometra e buscar correlações desse com outros parâmetros laboratoriais. Participaram do estudo 20 cadelas doentes e 19 saudáveis, submetidas à colheita de sangue para determinação dos diversos parâmetros pesquisados. A PCR mostrou-se significativamente elevada com relação ao grupo saudável ( $5,48 \pm 2,09$  mg/L *versus*  $1,13 \pm 1,35$  mg/L), não mostrando alta correlação com os demais exames. Conclui-se que a PCR apresenta-se mais elevada em pacientes com piometra do que em animais saudáveis.

**Palavras-chave** – complexo hiperplasia endometrial cística/piometra, pentraxina, proteína de fase aguda, reação inflamatória

**ABSTRACT** – C-reactive protein is an acute phase protein produced by the liver in situations of tissue injury caused by various factors. In dogs, high levels of this protein generally correlate to the extent and disease activity, and successively decreasing values indicate good response to therapy employed. Its high concentration has been associated with various diseases and inflammatory conditions in general and in pyometra, correlating with a longer hospital stay. In healthy animals remains a lower value and does not vary throughout the day or stage of the estrous cycle. The objectives of this study was to define and compare values of C-reactive protein (CRP) in healthy dogs with pyometra and check that correlations with other laboratory parameters. The study included 20 dogs and 19 healthy patients who underwent blood sampling for determination of various parameters studied. CRP was significantly higher with respect to the healthy group ( $5.48 \pm 2.09$  mg / L versus  $1.13 \pm 1.35$  mg / L), showing high correlation with other tests. We conclude that the CRP may be useful in the diagnosis of patients with pyometra and healthy animals that have small amounts of this protein.

**Key words** – acute phase protein, cystic endometrial hyperplasia/ pyometra complex, inflammatory response, pentraxin

## INTRODUÇÃO

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda sintetizada pelo fígado que tem seus níveis séricos elevados em condições de danos teciduais, sob estímulo de

citocinas pró-inflamatórias. Cadelas com piometra apresentam valores elevados dessa proteína (Dabrowski et al., 2007; Fransson et al., 2004). Em cães saudáveis, os valores fisiológicos da PCR normalmente se mantêm menores que 5mg/L (Caspi et al., 1984), havendo, no entanto, grande variação individual (Otabe et al., 1998). Existem variadas metodologias para a dosagem da PCR, e alguns testes desenvolvidos para humanos podem ser utilizados em cães. No entanto, recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus valores de referência de acordo com o kit utilizado e a espécie estudada.

Esse estudo teve como objetivos definir valores de referência para a PCR, comparar os valores entre os dois grupos e relacionar valores aumentados de PCR em animais com piometra com outros parâmetros laboratoriais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (ANEXO 1).

### *Animais*

Foram incluídas no estudo vinte cadelas com piometra (Grupo Piometra) com ou sem raça definida, com idade média de 87 meses ( $87 \pm 36,98$ ) e peso médio de 17,4 Kg ( $17,4 \pm 11,07$ ) que foram atendidas por clínicas e hospitais veterinários colaboradores dessa pesquisa no período de janeiro a outubro de 2009. O diagnóstico de piometra baseou-se no histórico, sinais clínicos e exames complementares (ultrassonografia abdominal e hemograma), e o tempo de evolução da doença foi estimado como o tempo decorrido desde a percepção pelo proprietário

do início dos sinais até a data da consulta. Foram incluídas no estudo apenas cadelas com síndrome da resposta inflamatória sistêmica e sepse. Animais em SRIS devem apresentar pelo menos dois dos seguintes parâmetros estabelecidos por Hauptman et al. (1997): 1. frequência cardíaca maior que 120 batimentos por minuto, 2. frequência respiratória maior que 20 movimentos inspiratórios por minuto, 3. temperatura retal menor que 38,1°C ou maior que 39,2°C e 4. leucograma menor que 6000 ou maior que 16000 células/ $\mu$ L. Uma vez considerados em SRIS, todos os animais estavam também em sepse, já que a sepse é a SRIS associada à infecção, que por sua vez caracteriza-se por evidências histológicas e microbiológicas ou presença óbvia de coleções purulentas/abscessos (Gebhardt et al., 2009).

O Grupo Controle foi composto por dezenove cadelas saudáveis e não castradas, que já haviam manifestado seu 1º estro, com ou sem raça definida, com idade média de 35,26 meses ( $35,26 \pm 26,75$ ) e peso médio de 11,03 Kg ( $11,03 \pm 5,68$ ). Os animais foram voluntariamente trazidos por seus proprietários, que autorizaram o procedimento. Os animais foram submetidos a exame físico completo, para verificar sua higidez, e foram excluídos do estudo aqueles com histórico de doença recente, que recebiam alguma medicação ou que apresentaram resultados dos exames complementares fora dos parâmetros de normalidade.

#### *Colheita do Sangue e Análises Clínicas*

As amostras de sangue para determinações hematológicas e bioquímicas foram coletadas da veia jugular (5 mL), respectivamente em tubos secos e com anticoagulante EDTA (ácido etileno diamina tetra acético), e então encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da UFPR. Uma alíquota de soro (0,5 a 1mL) de cada amostra foi separada em tubo Eppendorf de 1mL, e congelada a -20°C, para

posteriormente ser submetida à dosagem de proteína C reativa; todas as amostras permaneceram congeladas por no máximo 2 meses e descongeladas em temperatura ambiente momentos antes da dosagem.

As análises bioquímicas (proteína total/ PT, albumina, globulina, fosfatase alcalina/ FA, aspartato aminotransferase/ AST, alanino aminotransferase/ ALT, gama glutamiltransferase/ GGT, bilirrubinas total/ BT, direta/ BD e indireta/ BI, colesterol, uréia, creatinina, glicose) e hematológicas (hemograma – incluindo eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, volume globular médio/ VGM, concentração de hemoglobina/ CHGM e diferencial de leucócitos –, plaquetas, fibrinogênio, proteína plasmática total/ PPT) foram realizadas utilizando-se métodos de rotina do Laboratório de Patologia Clínica da UFPR. No exame diferencial de leucócitos, também foi avaliada a presença de alterações morfológicas, caracterizadas pela presença de granulações tóxicas, vacuolização e/ou presença de corpúsculos de Döhle. O desvio à esquerda foi considerado quando observada uma porcentagem superior a 3% no número de neutrófilos bastonetes com relação aos leucócitos totais (Jain, 1993).

A proteína C reativa foi dosada no soro pelo teste PCR - Ultra-Sensível Turbidimétrico, utilizando-se kit comercial Biotécnica (Biotécnica Indústria e Comércio, Varginha, MG, Brasil), (CAT BT – 20.017.00). Partículas de látex estabilizadas e sensibilizadas com anticorpo anti-proteína C-reativa (anti-PCR) humana são aglutinadas quando a PCR está presente na amostra. A intensidade da aglutinação, medida em absorbância, está relacionada à concentração de PCR, e por comparação com um calibrador de PCR de concentração conhecida, pode-se determinar o conteúdo de PCR na amostra ensaiada. Foram misturados 0,01 mL de soro (amostra) com 1,0 mL do reagente, mistura que foi colocada no porta-cubetas

termostatizado a 37°C do espectrofotômetro (Analisador de Bioquímica QuickLab II - Drake Eletronica), que realizava duas leituras em 530 nm (absorbâncias A1 e A2) com 4 minutos de intervalo. A diferença entre as duas leituras foi multiplicada pelo fator 15,5, valor obtido a partir do seguinte cálculo: concentração do padrão (7 mg/L) dividida pela diferença entre as absorbâncias A1 e A2 lidas após a mistura entre a concentração padrão e o reagente.

### *Microbiologia*

O exsudato uterino das cadelas do Grupo Piometra foi obtido ao término do procedimento cirúrgico. Realizou-se pequena incisão na região da bifurcação uterina com instrumental e luvas estéreis, por onde foi introduzido um swab, que após ser embebido na secreção foi colocado em reservatório apropriado contendo meio de Stuart. O material foi armazenado a 4°C durante, no máximo, meia hora, até ser encaminhado para bacteriologia no Setor de Microbiologia Veterinária da UFPR. O conteúdo foi semeado em Agar Sangue e MacConkey, e as placas mantidas em estufa a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 24 horas. Após crescimento, foi realizada a coloração de Gram. Os microorganismos que cresceram no Ágar MacConkey foram submetidos a provas bioquímicas, a fim de se realizar a identificação da bactéria.

### *Análise Estatística*

Para a comparação das concentrações entre os grupos Piometra e Controle foi realizado o Teste-t independente, considerando um nível de significância  $\alpha = 0,05$ .

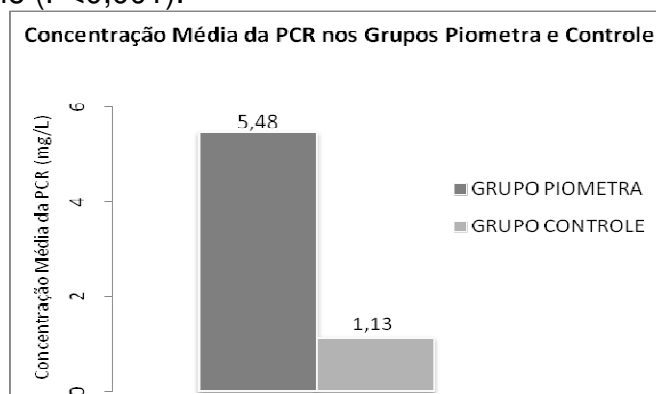
As correlações entre a PCR e demais parâmetros se deu por meio do teste de correlação linear de Pearson, sendo considerada uma alta correlação (positiva ou negativa) a partir de  $r = 0,5$ .

Os resultados extremos obtidos a partir do cálculo da média  $\pm$  intervalo de confiança foram comparados ao valores de referência de literatura (Jain, 1993; Kaneko, 1989) para estimar se determinado parâmetro se apresentava elevado, reduzido ou dentro da normalidade.

## RESULTADOS

Os animais com piometra apresentaram valores mais elevados de PCR do que os animais saudáveis, do Grupo Controle ( $P < 0,001$ ) (Gráfico 1). O valor médio encontrado no Grupo Piometra foi de  $5,48 \pm 2,09$  mg/L, sendo o menor valor observado 1,02 e o maior, 10,45 mg/L. No Grupo Controle, a média foi  $1,13 \pm 1,35$  mg/L, sendo o menor valor 0,015 e o maior, 4,81 mg/L.

Gráfico 1 – Valores médios da Proteína C Reativa (PCR) nos Grupos Piometra e Controle ( $P < 0,001$ ).



Nos animais com piometra, não houve alta correlação entre o valor da PCR e a idade ( $r = 0,28$ ) (Gráfico 2).

O tempo médio de evolução da doença foi de  $6 \pm 3,7$  dias, não havendo correlação com a concentração de PCR ( $r = 0,05$ ) (Gráfico 3).



Gráfico 2 – Baixa correlação positiva entre a Proteína C Reativa (PCR) e a idade em cadelas com piometra ( $r = 0,28$ ).

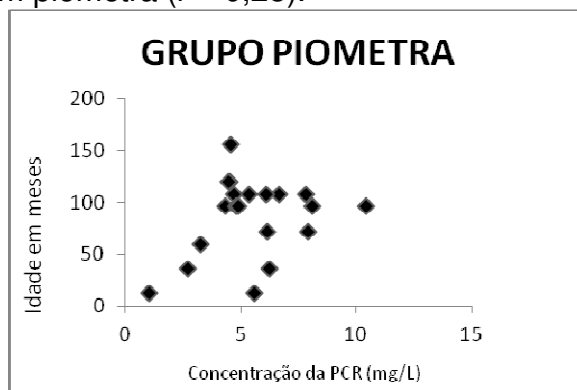
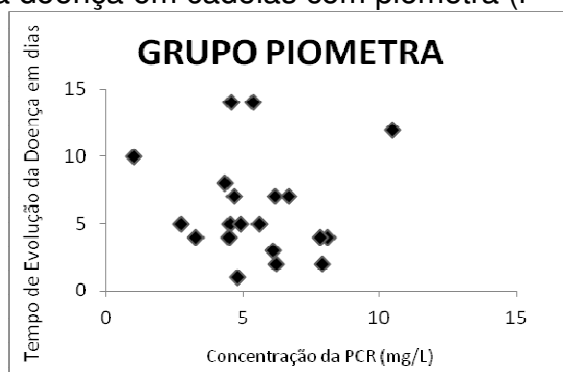
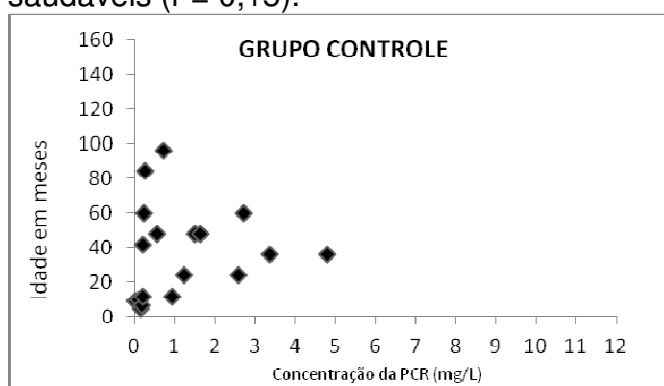


Gráfico 3 – Baixa correlação positiva entre a Proteína C Reativa (PCR) e o tempo de evolução da doença em cadelas com piometra ( $r = 0,05$ ).



No Grupo Controle não houve alta correlação entre o valor da PCR e a idade ( $r = 0,15$ ) (Gráfico 4).

Gráfico 4 – Baixa correlação positiva entre a Proteína C Reativa (PCR) e a idade em cadelas saudáveis ( $r = 0,15$ ).



Houve diferença significativa ( $P<0,05$ ) entre os dois grupos nos parâmetros albumina, ALT, creatinina, FA, uréia, fibrinogênio, PPT, eritrócitos, hematócrito, hemoglobina, CHGM, leucócitos, neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, metamielócitos, eosinófilos e monócitos (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros laboratoriais que apresentaram diferença significativa entre os Grupos Controle e Piometra ( $P<0,05$ ).

PARÂMETROS	GRUPO PIOMETRA		GRUPO CONTROLE		VALORES DE REFERÊNCIA
	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO	
ALBUMINA	3,07	0,56	3,71	0,42	2,6 – 3,3 g/dL
ALT	35,47	20,47	50,63	22,47	10 – 88 UI/L
CREATININA	1,4	0,75	0,97	0,21	0,5 – 1,5 mg/dL
FA	285,3	298,8	98,47	55,39	20 – 156 UI/L
URÉIA	70,65	56,45	34,98	14,32	21,4 – 59,92 mg/dL
FIBRINOGENIO	0,41	0,24	0,1	0,1	0,1 – 0,3 g/dL
PROT PLASM TOTAIS	7,59	0,92	6,82	0,61	6 – 8 g/dL
ERITRÓCITOS	5,63	0,96	7,05	0,86	5,5 – 8,5 milhões/L
HEMATÓCRITO	38,9	8,55	50	6,2	37 – 55%
HEMOGLOBINA	13,85	2,79	17,22	1,91	12 – 18 g/dL
CHGM	35,77	2,16	34,52	1,07	32 – 36%
LEUCÓCITOS TOTAIS	36765	26857,5	12757,89	3821,76	6000 – 17000 / $\mu$ L
NEUTR SEGMENTADOS	26690,95	20516,09	7725,36	4016,94	3000 – 11500 / $\mu$ L
NEUTR BASTONETES	3193,65	4070,88	0	0	0 – 300 / $\mu$ L
METAMIELÓCITOS	315,55	648,81	0	0	0 / $\mu$ L
EOSINÓFILOS	341,25	381,89	759,15	595,87	100 – 1250 / $\mu$ L
MONÓCITOS	4193,75	4251,41	719,84	418,34	150 – 1350 / $\mu$ L

No Grupo Piometra, os parâmetros que ficaram acima dos valores de referência foram AST, colesterol, creatinina, bilirrubinas total e direta, FA, uréia, glicose, fibrinogênio, leucócitos, neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes, metamielócitos e monócitos, sendo que em mais de 50% dos animais observou-se aumento de bilirrubinas total e direta, fosfatase alcalina, fibrinogênio, leucócitos,

neutrófilos segmentados e bastonetes e monócitos. Eritrócitos e hematócrito apresentaram-se abaixo dos valores de referência (Tabela 2).

Tabela 2 - Parâmetros aumentados e reduzidos no Grupo Piometra com relação aos valores de referência e porcentagem de animais que apresentaram essa discrepância.

PARÂMETROS	MÉDIA ± INTERVALO DE CONFIANÇA	NÚMERO DE ANIMAIS	VALORES DE REFERÊNCIA
ASPARTATO AMINOTRANSFERASE	56,71 – 93,79	6/20 (30%)	10 – 88 UI/L
COLESTEROL	231,5 – 323,2	7/20 (35%)	135 – 270 mg/dL
CREATININA	1,07 – 1,73	6/20 (30%)	0,5 – 1,5 mg/dL
BILIRRUBINA TOTAL	0,42 – 0,75	16/20 (80%)	0,1 – 0,3 mg/dL
BILIRRUBINA DIRETA	0,19 – 0,36	16/20 (80%)	0,06 – 0,12 mg/dL
FOSFATASE ALCALINA	154,3 – 416,3	13/20 (65%)	20 – 156 UI/L
URÉIA	45,91 – 95,39	9/20 (45%)	21,4 – 59,92 mg/dL
GLICOSE	93,61 – 117,8	5/20 (25%)	70 – 110 mg/dL
FIBRINO GênIO	0,3 – 0,5	13/20 (65%)	0,1 – 0,3 g/dL
LEUCÓCITOS	24994,39 – 48535,6	15/20 (75%)	6000 – 17000 / $\mu$ L
NEUTRÓFILOS SEGMENTADOS	17699,54 – 35682,35	16/20 (80%)	3000 – 11500 / $\mu$ L
NEUTRÓFILOS BASTONETES	1409,54 – 4977,75	12/20 (60%)	0 – 300 / $\mu$ L
METAMIELÓCITOS	31,19 – 599,9	7/20 (35%)	0 / $\mu$ L
MONÓCITOS	2330,52 – 6056,97	13/20 (65%)	150 – 1350 / $\mu$ L
ERITRÓCITOS	5,21 – 6,06	8/20 (40%)	5,5 – 8,5 milhões/L
HEMATÓCRITO	35,15 – 42,64	9/20 (45%)	37 – 55%

No Grupo Controle, albumina, AST, bilirrubinas total e direta e glicose ficaram acima dos valores de referência, sendo que a albumina e bilirrubinas total e direta estavam aumentadas em mais de 50% dos animais. O fibrinogênio mostrou-se abaixo dos valores de referência (Tabela 3).

Tabela 3 - Parâmetros aumentados e reduzidos no Grupo Controle com relação aos valores de referência e porcentagem de animais que apresentaram essa discrepância.

PARÂMETROS	MÉDIA ± INTERVALO DE CONFIANÇA	NÚMERO DE ANIMAIS	VALORES DE REFERÊNCIA
ALBUMINA	3,52 – 3,90	15/19 (78%)	2,6 – 3,3 g/dL
ASPARTATO AMINOTRANSFERASE	60,66 – 92,71	4/19 (21%)	10 – 88 UI/L
BILIRRUBINA TOTAL	0,44 – 0,63	17/19 (89%)	0,1 – 0,3 mg/dL
BILIRRUBINA DIRETA	0,17 – 0,26	14/19 (73%)	0,06 – 0,12 mg/dL
GLICOSE	101,7 – 119,8	9/19 (47%)	70 – 110 mg/dL
FIBRINOGENIO	0,05 – 0,14	9/19 (47%)	0,1 – 0,3 g/dL

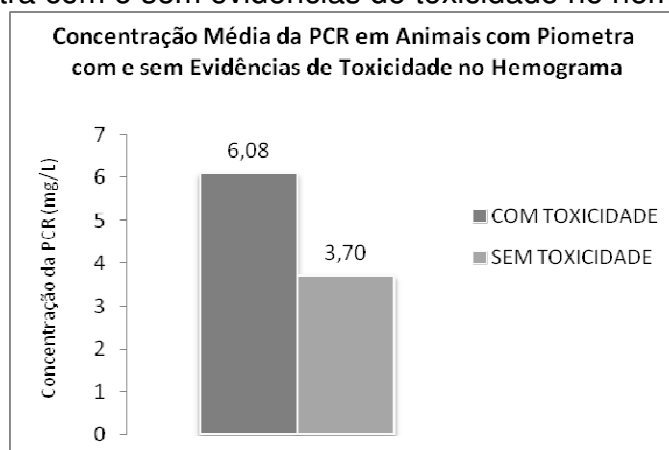
Considerando como uma correlação alta um  $r$  a partir de 0,5 (50%), é possível afirmar que a correlação entre a PCR e todos os demais parâmetros no Grupo Piometra foi baixa (Tabela 4), sendo que os valores que mais se aproximaram do valor estipulado ( $r = 0,5$ ), foram a AST, de forma negativa ( $r = - 0,44$ ) e a globulina, positivamente ( $r = 0,4$ ). Nos parâmetros hematológicos, todas as correlações foram baixas e negativas, sendo as maiores, de neutrófilos segmentados ( $r = - 0,31$ ) e de leucócitos ( $r = - 0,3$ ).

Tabela 4 – Correlações entre a proteína C reativa (PCR) e todos os parâmetros, bioquímicos e hematológicos, dosados em cadelas do Grupo Piometra.

PARÂMETRO	VALOR DE r	PARÂMETRO	VALOR DE r
<b>Correlações Negativas</b>		<b>Correlações Negativas</b>	
AST	0,44	SEGMENTADOS	0,31
ALBUMINA	0,39	LEUCÓCITOS	0,30
ALT/TGP	0,32	METAMIELÓCITOS	0,27
GGT	0,20	HEMOGLOBINA	0,23
FA	0,11	ERITRÓCITOS	0,22
PLAQUETAS	0,06	LINFÓCITOS	0,22
<b>Correlações Positivas</b>		HEMATÓCRITO	0,20
GLOBULINA	0,40	EOSINÓFILOS	0,20
GLICOSE	0,26	MONÓCITOS	0,19
BILIRRUBINA DIRETA	0,20	BASTONETES	0,17
URÉIA	0,19	VGM	0,08
FIBRINOGÊNIO	0,18	CHGM	0,02
PROTEÍNAS TOTAIS	0,17		
CREATININA	0,16		
BILIRRUBINA TOTAL	0,15		
PROT PLASM TOTAIS	0,11		
COLESTEROL	0,09		
BILIRRUBINA DIRETA	0,06		

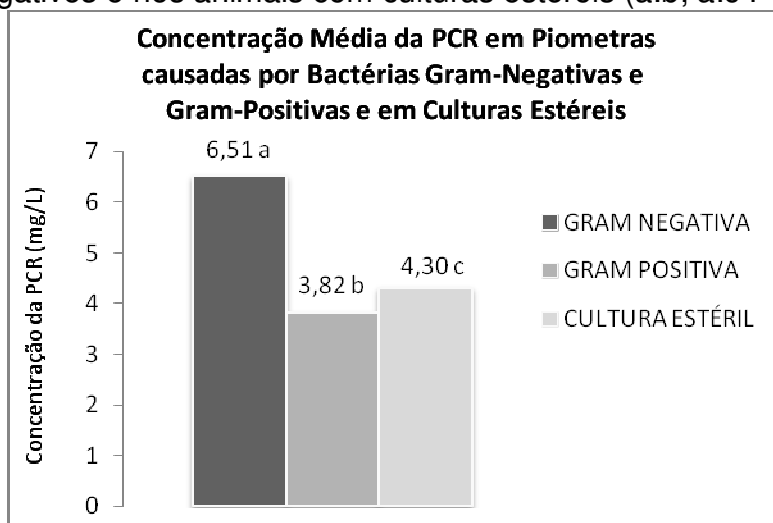
No Grupo Piometra, os animais que apresentaram evidências de alterações morfológicas leucocitárias em seu hemograma (15/20; 75%), caracterizada pela presença de basofilia citoplasmática, citoplasma espumoso ou observação de corpúsculos de Döhle, apresentaram a concentração média de PCR significativamente maior que o grupo sem essas alterações ( $P < 0,05$ ) (Gráfico 5). Onze animais apresentavam desvio à esquerda concomitantemente à presença de toxicidade (11/20; 55%).

Gráfico 5 – Concentração média da proteína C reativa (PCR) entre animais com piometra com e sem evidências de toxicidade no hemograma ( $P < 0,05$ ).



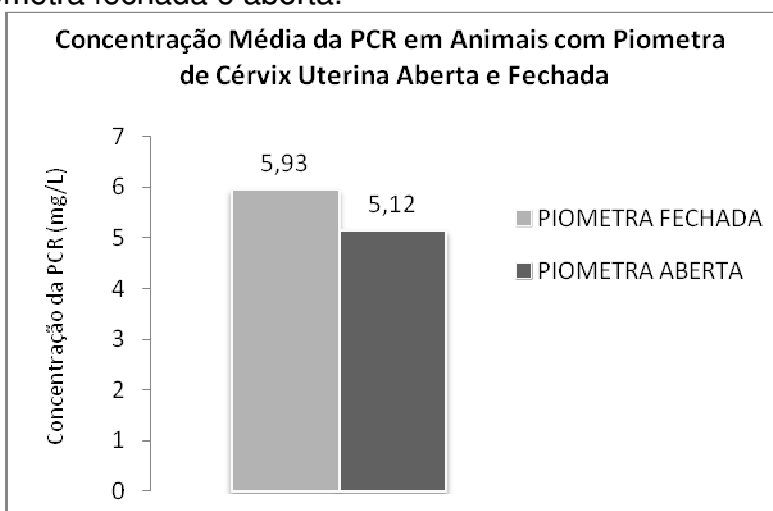
Na análises microbiológicas, de um total de 20 amostras, houve crescimento bacteriano em apenas 14. Dessas, em 10 culturas houve crescimento de bactérias Gram-negativas (6 *Klebsiela* sp. e 4 *Escherichia coli*), correspondendo a 71,42%. Entre as bactérias Gram-positivas, foram identificados 1 *Streptococcus* sp. beta-hemolítico e 3 *Staphilococcus* sp. coagulase-negativos. A média da concentração de PCR entre os animais com cultura Gram-negativa (10/ 14) foi  $6,51 \pm 1,97$  mg/L, e entre os com cultura Gram-positiva (4/14) foi  $3,82 \pm 0,97$  mg/L, sendo essa diferença estatisticamente significativa. Nos 6 casos em que não houve crescimento bacteriano, a concentração média de PCR foi de 4,3 mg/L, havendo diferença significativa quando comparada à concentração no grupo com cultura Gram-negativa (Gráfico 6).

Gráfico 6 – Concentração média da proteína C reativa (PCR) nos animais com piometra causada por microorganismos Gram-positivos e Gram-negativos e nos animais com culturas estéreis (a:b; a:c P<0,05).



No momento da consulta, entre as 20 cadelas com piometra, 11 apresentavam a cérvix aberta. A PCR apresentou médias próximas entre os tipos de piometra aberta ( $5,93 \pm 1,45$  mg/L) e fechada ( $5,12 \pm 2,71$  mg/L), não sendo a diferença estatisticamente significativa (Gráfico 7).

Gráfico 7 – Concentração média da proteína C reativa (PCR) em animais com piometra fechada e aberta.



## DISCUSSÃO

A PCR apresentou-se quase cinco vezes mais elevada no Grupo Piometra do que no Grupo Controle. Dabrowski et al. (2007) encontraram um valor ainda mais extremo ( $86,7 \pm 72,2$  mg/L), relatando um aumento na concentração de PCR de até 30 vezes em comparação com valores encontrados em cadelas saudáveis. No estudo de Fransson et al. (2007), esse parâmetro variou de 26,4 a 378,9 mg/L ( $207,7 \pm 92,5$ ). Carvalho et al. (2008) trabalharam com o mesmo kit comercial utilizado em nossa pesquisa, encontrando o valor médio de  $0,9 \pm 0,21$  mg/L. Para cães saudáveis, Kuribayashi et al. (2003) encontraram o valor médio de  $8,3 \pm 4$  mg/L, Carvalho et al. (2008), de  $0,11 \pm 0,08$  mg/mL e Fransson et al. (2007),  $19,8 \pm 8,2$  mg/L.

Apesar de valores tão diversos, o que há em comum entre esses estudos é a diferença significativa da concentração da PCR entre o grupo doente (piometra) e o saudável, o que reflete a ocorrência de uma reação inflamatória descontrolada, com intensa produção de citocinas pró-inflamatórias (Dabrowski et al., 2007). Essa situação recebe o nome de SRIS, e a PCR pode ser considerada um marcador dessa síndrome (Fransson et al., 2007).

No entanto, a exposição desses resultados demonstra também a grande variação entre os valores de diferentes estudos. Mesmo na pesquisa que utiliza a mesma metodologia aqui empregada, o valor foi distante da média encontrada. Há diferenças também entre as unidades de medida de cada método. Sendo assim, é difícil estabelecer valores de referência para esse parâmetro baseando-se em outros estudos. Por isso, recomenda-se que cada laboratório estabeleça sua própria amplitude, de acordo com o kit utilizado e a espécie estudada.



É importante levar em consideração também a grande variação individual, citada em praticamente todos os estudos com PCR (Dabrowski et al., 2007; Nielsen et al., 2007). Um dos cães com piometra, por exemplo, apresentou o reduzido valor de 1,2 mg/L, enquanto um outro cão do Grupo Controle teve concentração de 4,81 mg/L. Por isso, a PCR nunca deve ser avaliada isoladamente, devendo-se sempre associá-la aos achados clínicos (Silva e Machado, 2005).

Sabe-se que a administração de grandes volumes de solução fisiológica pode ocasionar acidose metabólica hiperclorêmica, uma vez que a maior quantidade de cloretos no sangue induz à maior eliminação renal de bicarbonato. A hipercloremia apresenta efeito pró-inflamatório, interferindo na síntese dos eicosanóides e podendo ocasionar vasoconstrição renal e redução da taxa de filtração glomerular, além de diminuir a afinidade do oxigênio pela hemoglobina; talvez por isso seja relacionada a um pior prognóstico e maior mortalidade (Silva Junior et al., 2009). Nesse estudo, o volume de solução fisiológica administrado foi controlado, mas possíveis alterações ácido-básicas podem ter interferido nos resultados finais, já que não foi realizada a hemogasometria. Além disso, a acidose é freqüente na piometra, e pode ter sido agravada pelo uso de uma solução considerada acidificante. Sendo assim, a identificação de animais em acidose enriqueceria esse estudo, direcionando a fluidoterapia e possibilitando correlações entre valores elevados de cloro, concentração de PCR e efeitos do antiinflamatório firocoxib nesses animais.

No Grupo Piometra, parâmetros como albumina, ALT, eritrócitos, hematócrito, hemoglobina e eosinófilos mostraram-se, em média, menores do que no Grupo Controle.

A albumina é conhecida como sendo uma proteína de fase aguda (PFA) negativa, sendo a mais importante no cão. Sua síntese é inibida em casos de estímulo

inflamatório, objetivando poupar aminoácidos, que poderão ser utilizados na síntese de PFA positivas, como a PCR (Paltrinieri, 2008).

Apesar das enzimas hepáticas em geral apresentarem-se elevadas no caso da piometra, o mesmo não ocorre com a ALT. Seu valor significativamente menor foi observado nesse estudo e também por outros pesquisadores, não havendo uma justificativa comprovada para tal ocorrência (Fransson, 2003).

As alterações observadas na série vermelha podem ser explicadas pela anemia, algumas vezes manifestada devido ao caráter inflamatório crônico da doença (supressão da eritropoiese) ou pela perda de hemácias no lúmen uterino e hemodiluição. A sepse e a toxemia também podem causar supressão da medula óssea (Feldman, 2004; Faldyna et al., 2001).

A diferença com relação ao número de eosinófilos pode ser explicada pela média elevada do Grupo Controle (ainda que dentro do valor de referência), composto em sua maioria por animais de pessoas carentes, que, apesar de saudáveis, ocasionalmente poderiam ser portadores de alguma parasitose intestinal. Não foi realizado exame coproparasitológico nesses animais, sendo essa, portanto, uma inferência. Carvalho et al. (2008) também encontraram essa variação em seu estudo com cadelas com piometra. Essa ocorrência também poderia ser explicada pela liberação de mediadores químicos durante a reação inflamatória aguda, causando um rápido e persistente declínio no número de eosinófilos circulantes (Bass et al., 1980).

Houve diferença significativa entre os dois grupos também nos parâmetros creatinina, uréia, fosfatase alcalina, fibrinogênio, proteínas plasmáticas totais, CHGM, leucócitos totais, neutrófilos segmentados, neutrófilos bastonetes,

metamielócitos e monócitos. Todos se apresentaram, em média, maiores em relação ao Grupo Controle.

A desidratação pode explicar tanto o aumento das proteínas plasmáticas totais como da creatinina e uréia, caso já tenha havido lesão renal, que por sua vez pode ser secundária também à endotoxemia (Fransson, 2003).

A sepse e a hipóxia tecidual secundária à desidratação também levam ao aumento de enzimas hepáticas, como a fosfatase alcalina (Feldman, 2004), cuja média foi três vezes maior que a do Grupo Controle. Essa enzima, quando associada à PCR, apresenta alta especificidade na diferenciação entre a piometra e a hiperplasia endometrial cística, além de ser um indicativo de colestase intra-hepática (Fransson et al., 2004).

O leucograma pode revelar neutrofilia, nos casos mais severos com desvio à esquerda degenerativo e presença de neutrófilos tóxicos (Feldman, 2004). As principais alterações hematológicas encontradas em pacientes sépticos são a leucocitose e a neutrofilia, ou, em alguns casos, neutropenia. A produção e a ativação aumentadas dos neutrófilos circulantes podem ocasionar lesões teciduais, que por sua vez aumentam o risco de desenvolvimento de falência múltipla orgânica (Salgado et al., 2007). Carvalho et al. (2008) encontraram resultados bastante semelhantes com relação ao leucograma, exceto pelo fato de que em seu estudo houve aumento também nos linfócitos. A ocorrência de toxicidade leucocitária é um forte indicativo de bacteremia; Salgado et al. (2007) encontraram associação em 73% dos pacientes entre a presença de granulações tóxicas e resultados positivos de hemoculturas. Shaoul et al. (2008) observaram que crianças com bacteremia apresentavam valores de PCR significativamente maiores que as sem bacteremia, e que hemoculturas positivas relacionavam-se a maior tempo de hospitalização.

Sendo assim, é possível considerar que valores elevados de PCR e presença de granulações tóxicas podem indicar um maior tempo de recuperação.

O aumento da série branca é uma indicação evidente da ocorrência de reação inflamatória, juntamente com o fibrinogênio. O fibrinogênio, assim como a PCR, também é uma PFA positiva, e tem sua síntese hepática estimulada pelas interleucinas IL-1 e IL-6 e pelo fator de necrose tumoral (Paltrinieri, 2008). Durante a resposta inflamatória aguda, sua concentração plasmática aumenta por vários dias, sendo que o grau de hiperfibrinogenemia pode ser relacionado à severidade da inflamação (Vecina, 2006; Jain, 1993).

As alterações de determinados parâmetros no Grupo Controle, que ficaram fora dos valores de referência, são discretas em sua maioria, possivelmente não afetando os resultados desse estudo. Os valores mais notáveis são as bilirrubinas total e direta, que estão bastante acima do valor recomendado, e o fibrinogênio, que está reduzido. Os animais não apresentavam evidência de qualquer alteração de saúde, portanto esses resultados podem ser atribuídos a variações individuais.

No Grupo Piometra, os parâmetros que mais se afastaram do valor de referência foram o colesterol, bilirrubinas total e direta, fosfatase alcalina, uréia, fibrinogênio, leucócitos, neutrófilos (segmentados e bastonetes), metamielócitos e monócitos. O colesterol pode estar elevado na piometra, secundário à colestase intra-hepática (Fransson, 2003), e isso justifica seu valor fora da referência, apesar de não ter sido observada diferença entre os dois grupos. As bilirrubinas total e direta também podem ser indicativas de colestase intra-hepática; essa condição é chamada de colestase da sepse, quando citocinas como a IL-6 e o FNT inibem diretamente o transporte da bilirrubina no hepatócito. Esses parâmetros, no entanto, apresentam pequeno significado clínico em pacientes veterinários (Leveille-Webster, 2004); tal

afirmação pode ser corroborada pelo achado semelhante no Grupo Controle, que também apresentou BT e BD elevadas. Os demais parâmetros elevados já foram explicados anteriormente, pois diferiram estatisticamente do Grupo Controle.

Os valores da PCR não se correlacionaram ao tempo de evolução da doença. Esperava-se que um maior tempo de evolução cursasse com um valor mais elevado de PCR. Esse parâmetro pode não ser fidedigno para avaliar a gravidade do quadro no momento da consulta, já que o grau de morbi/mortalidade causada pela sepse pode ser determinado por vários fatores, como as características do patógeno (virulência) e a resistência deste à antibioticoterapia, o estado nutricional do paciente e o grau e a natureza da resposta inflamatória do hospedeiro (Salgado et al., 2007). Além disso, é plausível incluir também fatores como o tipo de piometra (aberta ou fechada) e o estado imunológico do animal. Ou seja, por motivos diversos, alguns animais apresentam uma capacidade surpreendente de se manterem estáveis ao longo de dias, enquanto outros decaem em pouco tempo.

Da mesma forma, esperava-se que animais mais velhos apresentassem PCR mais alta, já que são mais suscetíveis a infecções devido ao seu sistema imune mais debilitado. Tal associação não foi observada em nenhum dos dois grupos, concordando com os resultados de Kuribayashi et al. (2003), que não encontraram diferenças relacionadas à idade ou ao sexo em cães saudáveis.

A prevalência de 71,42% de bactérias Gram-negativas em nosso estudo concorda com a literatura, pois são esses os microorganismos mais isolados do exsudato uterino de cadelas com piometra. Entre as Gram-negativas, a *Escherichia coli* é a bactéria mais comumente isolada das piometras. Em estudo de Coggan et al. (2008), foram analisadas 200 amostras provenientes dos dois cornos uterinos de 100 animais. Das 197 amostras que apresentaram crescimento bacteriano, em 146

(74,1%), a bactéria isolada foi a *Escherichia coli*, vindo em segundo lugar a *Klebsiella pneumoniae* e a *Citrobacter diversus*, cada qual com 3%. Fransson et al. (1997) isolaram a *Escherichia coli* de 90% das amostras (43 de 48), seguida da *Pasteurella multocida* e o *Streptococcus canis*, com apenas 2% cada uma. Esses mesmos autores isolaram a *Escherichia coli* também do reto de cadelas afetadas, o que indica a ocorrência de uma infecção uterina ascendente proveniente da flora bacteriana intestinal e justifica sua comum ocorrência.

Amostras de conteúdo uterino de seis cadelas não resultaram em crescimento bacteriano. Nesses casos, a bactéria envolvida na patogênese da piometra pode ter sido morta pelos mecanismos de defesa uterinos ou pela terapia antibiótica, que foi realizada previamente à coleta do material (Dhaliwal et al., 1998).

A PCR apresentou-se mais elevada nas cadelas com infecção por microorganismos Gram-negativos, concordando com o estudo de Vandijck et al. (2007), que estudaram 105 episódios de infecções nosocomiais em 84 pacientes humanos. Nessa pesquisa, em 57% dos casos de bacteremia foram encontradas bactérias Gram-negativas, e os valores de PCR e leucograma apresentavam-se mais elevados nessas situações do que nas infecções por Gram-positivas. Apesar de nossa pesquisa não ter incluído em sua metodologia a realização de hemocultura, a presença de toxicidade leucocitária sugere bacteremia, conforme já citado. Sendo assim, essa extrapolação parece ser válida, e comprova a afirmação de que diferentes microorganismos podem induzir diferentes respostas da PCR. O *Streptococcus agalactiae* e microorganismos intracelulares, por exemplo, induzem uma elevação mais lenta dessa proteína. Já os estafilococos coagulase negativos aumentam pouco a PCR, em contraste com o que é observado na sepse causada

por *Staphylococcus aureus* e bactérias Gram-negativas (Ceccon, 2008; Shimada et al., 2002).

A PCR não apresentou diferença estatisticamente relevante entre a apresentação da cérvix, se aberta ou fechada. Esperava-se que os casos de cérvix fechada apresentassem uma maior concentração desse parâmetro, já que estudos relatam uma maior gravidade dos sinais clínicos quando o canal cervical apresenta-se ocluído. Weiss et al. (2004) encontraram em seu estudo valores de progesterona significativamente mais elevados nos casos de piometra com cérvix uterina fechada, hormônio intimamente relacionado à hiperplasia endometrial cística e consequente desenvolvimento da piometra. No entanto, é importante ressaltar que é possível haver variação nesse comportamento no decorrer da doença, causando uma drenagem intermitente do exsudato uterino e interferindo diretamente na condição clínica da cadela (Fransson, 2003).

Os resultados desse estudo mostraram que a PCR está significativamente mais elevada em cadelas com piometra com relação a cadelas saudáveis, não mostrando alta correlação com os demais parâmetros mensurados.

## **CONCLUSÃO**

Esse estudo demonstrou uma diferença significativa na concentração de PCR entre o grupo de animais saudáveis e doentes. No Grupo Piometra, a concentração de PCR mostrou-se mais elevada, demonstrando a ocorrência de resposta inflamatória. No entanto, não foi encontrada alta correlação entre a PCR e demais parâmetros dosados.

## REFERÊNCIAS

BASS, D.A.; GONWA, T.A.; SZEJDA, P.; COUSART, M.S.; DECHATELET, L.R.; MCCALL, C.E. Production of Eosinopenia by Chemotactic Factors of Acute Inflammation. **Journal of Clinical Investigation**. June, v. 65, n. 6, p.1265–1271, 1980.

CARVALHO, C.C.D.; RÊGO, E.W.; QUEQUE, M.; SOARES, P.C. Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. **Medicina Veterinária**. Recife, Abril/Junho, v.2, n.2, p.1-8, 2008.

CECCON, M.E.J.R. Novas Perspectivas na Sepse Neonatal. **Pediatria (São Paulo)**. 30(4), p.198-202, 2008.

COGGAN, J.A.; MELVILLE, P.A.; OLIVEIRA, C.M.; FAUSTINO, M.; MORENO, A.M.; BENITES, N.R. Microbiological and Histopathological Aspects of Canine Pyometra. **Brazilian Journal of Microbiology**. v.39, p.477-483, 2008.

DABROWSKI, R.; WAWRON, W.; KOSTRO, K. Changes in CRP, SAA and haptoglobin produced in response to ovariectomy in healthy bitches and those with pyometra. **Theriogenology**. v.67, p.321-327, 2007.

DHALIWAL, K.; WRAY, C.; PATH, F.R.C.; NOAKES, D.E. Uterine bacterial flora and uterine lesions in bitches with cystic endometrial hyperplasia (pyometra). **The Veterinary Record**. v.143, n.24, p.659-661, 1998.

FALDYNA, M.; LAZNICKA, A.; TOMAN, M. Immunosuppression in bitches with pyometra. **Journal of Small Animal Practice**. Jan, v.42(1), p.5-10, 2001.

FELDMAN, E.C. O Complexo Hiperplasia Endometrial Cística/ Piometra e Infertilidade em Cadelas. In: Ettinger, S.J.; Feldman, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.2 p.1632-1649, 2004.

FRANSSON, B.; LAGERSTEDT, A.S.; HELLMÉN, E.; JONSSON, P. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. **Zentralbl Veterinarmed A**. September, n.44, v.7, p.417-426, 1997.



FRANSSON, B.A. **Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra – The Response to Bacterial Uterine Infection**. 2003. Uppsala, 49p. Doctoral thesis – Department of Small Animal Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences.

FRANSSON, B.A.; KARLSTAM, E.; BERGSTROM, A.; LAGERSTEDT, A.S.; PARK, J.S.; EVANS, M.A.; RAGLE, C.A. C-reactive Protein in the Differentiation of Pyometra From Cystic Endometrial Hyperplasia/Mucometra in Dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**. September/October, v.40, p.391-399, 2004.

GEBHARDT, C.; HIRSCHBERGER, J.; RAU, S.; ARNDT, G.; KRAINER, K.; SCHWEIGERT, F.J.; BRUNNBERG, L.; KASPERS, B.; KOHN, B. Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.19, n.5, p.450-458, 2009.

HAUPTMAN J.G.; WALSHAW R.; OLIVIER N.B. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary Surgery**. 26:393-397, 1997

JAIN, N.C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Lea&Febiger, 1993.

KANEKO, J.J. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. 4.ed. Academic Press Limited, 1989.

KURIBAYASHI, T.; SHIMADA, T.; MATSUMOTO, M.; KAWATO, K.; HONJYO, T.; FUKUYAMA, M.; YAMAMOTO, Y.; YAMAMOTO, S. Determination of Serum C-Reactive Protein (CRP) in Healthy Beagle Dogs of Various Ages and Pregnant Beagle Dogs. **Experimental Animals**. v.52(5), p.387-390, 2003.

LEVEILLE-WEBSTER, C.R. Diagnóstico Laboratorial de Doenças Hepatobiliares. *In*: Ettinger, S.J.; Feldman, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v.2 p.1348-1364, 2004.

NIELSEN, L.; TOFT, N.; ECKERSALL, D.; MELLOR, D.J.; MORRIS, J.S. Serum C-Reactive Protein Concentration as an Indicator of Remission Status in Dogs with Multicentric Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.21, p.1231-1236, 2007.

PALTRINIERI, S. The feline acute phase reaction. **The Veterinary Journal**. v.177, p.26-35, 2008.

SALGADO, D.N.S.; CARVALHO, R.G.; OLIVEIRA, M.F.P.; SANTOS, E.J.M.; BRITO JR, L.C. Importância da presença de granulações tóxicas para o diagnóstico hematológico de septicemia. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**. v.29, n.4, p.373-377, 2007.

SHAOUL, R.; LAHAD, A.; TAMIR, A.; LANIR, A.; SRUGO, I. C Reactive Protein (CRP) as a predictor for true bacteremia in children. **Medical Science Monitor**. v.14, n.5, p.CR255-261, 2008.

SHIMADA, T.; ISHIDA, Y.; SHIMIZU, M.; NOMURA, M.; KAWATO, K.; IGUCHI, K.; JINBO, T. Monitoring C-reactive Protein in Beagle Dogs Experimentally Inoculated with Ehrlichia canis. **Veterinary Research Communications**. v.26, n.3, p.171-177, 2002.

SILVA, A.V.R.; MACHADO, F.S. Procalcitonina e Proteína C Reativa como Indicadores de Sepse. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**. v.17(3), Julho/Setembro, 2005.

SILVA JUNIOR, J.M.; Neves, E.F.; Santana, T.C.; Ferreira, U.P.; Marti, Y.N.; Silva, J.M.C. Importância da Hiperclorémia no Intraoperatório. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v.59, n.3, p.304-313, 2009.

VANDIJCK, D.M.; HOSTE, E.A.; BLOT, S.I.; DEPUYDT, P.O.; PELEMAN, R.A.; DECRUYENAERE, J.M. Dynamics of C-reactive protein and White blood cell count in critically ill patients with nosocomial Gram positive vs. Gram negative bacteremia: a historical cohort study. **BMC Infectious Diseases**. v.7, n.106, 2007.

VECINA, J.F.; PATRÍCIO, R.F.; CIARLINI, P.C. Importância do Fibrinogênio Plasmático na Identificação de Processos Inflamatórios de Cães. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. Recife-PE, Janeiro/Abril, v.9, n.1, p.31-35, 2006.

WEISS, R.R.; CALOMENO, M.A.; SOUSA, R.S.; BRIERSDORF, S.M.; CALOMENO, R.A.; MURADÁS, P. Avaliação Histopatológica, Hormonal e Bacteriológica da Piometra na Cadela. **Archives of Veterinary Science**. v.9, n.2, p.81-87, 2004.

## 5. CAPÍTULO 4: Apresentação de Resultados

### PROTEÍNA C REATIVA E OUTROS PARÂMETROS LABORATORIAIS EM CADELAS COM PIOMETRA ASSOCIADA À SRIS/SEPSE ANTES E APÓS ADMINISTRAÇÃO DE FIROCOXIB (PREVICOX®)

*(C-Reactive Protein and others Laboratory Parameters in Bitches with SIRS/Sepsis  
Associated to Pyometra Before and After Firocoxib -Previcox®- Treatment)*

**RESUMO** – A piometra caracteriza-se pelo acúmulo de conteúdo mucopurulento ou sanguinolento no interior do útero e é uma afecção de grande importância na clínica médica e cirúrgica de animais de companhia, particularmente em cadelas em período posterior ao estro. Essa doença pode ocasionar graves efeitos deletérios, sobretudo quando associada à Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS). A dosagem de proteína C reativa (PCR) pode ser útil na avaliação de pacientes em SRIS. Ela é uma proteína de fase aguda, com síntese hepática e que aumenta em condições de danos teciduais, sob estímulo de citocinas pró-inflamatórias; em caso de resposta terapêutica favorável, diminui de forma contínua. O uso de anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais tem sido pesquisado como ferramenta terapêutica na atenuação dos efeitos gerados pela SRIS. O anti-inflamatório não-esteroidal firocoxib apresenta mecanismo de ação baseado na inibição da ciclooxigenase-2, sendo bastante utilizado para tratamento da osteoartrite canina e para analgesia pós-operatória, mas não há estudos relacionando seu uso em cães sépticos. Essa pesquisa teve como objetivos verificar a eficácia do anti-inflamatório não esteroidal firocoxib (Previcox®) na evolução da SRIS de 16 cadelas com piometra por meio da dosagem de PCR e outros

parâmetros laboratoriais. Os valores da PCR foram significativamente menores nos animais submetidos ao tratamento com o firocoxib, sugerindo que o uso de anti-inflamatórios pode ser importante auxiliar na estabilização da paciente com piometra e no controle da resposta inflamatória sistêmica.

**Palavras-chave** – proteína de fase aguda, anti-inflamatórios, inibidores da cicloxigenase-2, resposta inflamatória

**ABSTRACT** – Pyometra is characterized by the accumulation of mucopurulent or bloody content in the uterus and is a disease of great importance in clinical and surgical care of pets, particularly dogs in the period following estrus. This disease can cause serious deleterious effects, especially when associated with inflammatory response syndrome (SIRS). The level of C-reactive protein (CRP) may be useful in evaluating patients with SIRS. It is an acute phase protein, the hepatic synthesis and increases in conditions of tissue damage, or stimulation of pro-inflammatory cytokines, in case of response to therapy, decreases continuously. The use of nonsteroidal anti-inflammatory and non-steroidal has been investigated as a therapeutic tool in mitigating the effects generated by SIRS. The NSAID provides firocoxib mechanism of action based on inhibition of cyclooxygenase-2 and is often used for treatment of canine osteoarthritis and postoperative analgesia, but there are no studies linking its use in septic dogs. This research was designed to evaluate the effectiveness of nonsteroidal anti-inflammatory firocoxib (Previcox ®) in the evolution of the syndrome of systemic inflammatory response of 16 bitches with pyometra through CRP and other laboratory parameters. The values of CRP were significantly lower in animals subjected to treatment with firocoxib, suggesting that anti-

inflammatory drugs may be important to assist in stabilizing the patient with pyometra and control of systemic inflammatory response.

**Key words** – acute phase protein, antiinflammatory drugs, COX-2 inhibitor, inflammatory response

## INTRODUÇÃO

A piometra é uma afecção de grande importância na clínica médica e cirúrgica de animais de companhia, particularmente em cadelas. Caracteriza-se pelo acúmulo de conteúdo mucopurulento ou sanguinolento no interior do útero e ocorre logo após o estro ou até quatro meses depois. Os sinais clínicos comumente observados incluem apatia, perda de peso, poliúria, polidipsia, vômito, abdome distendido e, no caso de a cérvix uterina apresentar-se aberta, secreção vaginal (Smith, 2006). Essa doença pode ocasionar graves efeitos deletérios, sobretudo quando associada à Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SRIS).

A SRIS é a manifestação clínica da liberação sistêmica de mediadores inflamatórios que ocorre secundária a algum estímulo; quando resulta de uma infecção, recebe o nome de sepse (Fransson, 2003). Esse quadro clínico necessita de cuidados intensivos e terapia agressiva, pois muitas vezes evolui para choque séptico, falência orgânica e óbito (Barton, 2007). Essa síndrome foi associada a 57% e 61% dos casos de piometra em estudos de Fransson et al. (2007) e Hagman et al. (2009), respectivamente, números que reforçam a importância de seu reconhecimento e de sua correta abordagem pelo médico veterinário.

Atualmente, trabalhos têm utilizado a dosagem de proteínas de fase aguda, como por exemplo, a proteína C reativa (PCR), para diagnóstico e prognóstico de quadros

inflamatórios e infecciosos (Nakamura et al., 2008). A PCR é uma glicoproteína pertencente à família das pentraxinas, uma superfamília de proteínas filogeneticamente conservadas desde aracnídeos até mamíferos, componentes da resposta humoral imune inata (Mantovani et al., 2008). Sua produção é predominantemente hepática (pelos hepatócitos), mas subpopulações de linfócitos marginais também podem sintetizá-la, bem como células de Kupffer e monócitos (Park et al., 2005; Ruleva et al., 2003). A PCR é a única proteína de fase aguda envolvida diretamente na depuração de microorganismos, sendo considerada uma opsonina inata; ou seja, ela reconhece os microorganismos e providencia sua eliminação pelas células fagocíticas (Mantovani et al., 2008; Silva e Machado, 2005; Diehl et al., 2000). A PCR apresenta alta sensibilidade (71 a 98%) para diagnosticar processos infecciosos, porém, baixa especificidade (66 a 87%), uma vez que se eleva também em outras situações, como traumas cirúrgicos, doenças inflamatórias, neoplásicas e auto-imunes (Silva e Machado, 2005; Andriolo et al., 2004). Algumas de suas características mais importantes, do ponto de vista clínico, são seu rápido aumento após a introdução de um estímulo agudo e seu rápido declínio quando cessa o estímulo inflamatório, apresentando uma meia-vida de aproximadamente 19 horas em humanos (Silva e Machado, 2005). Em cães, não há estudos sobre a meia-vida da PCR, mas acredita-se que seja curta (Cerón et al., 2005); Bayramli e Ulutas (2008) consideram a meia-vida de proteínas de fase aguda, de uma forma geral, como sendo de 1-9 horas. Em apenas 4 horas já se detecta uma variação importante em sua concentração diante de um estímulo, o que fornece importante auxílio diagnóstico, além de ajudar na avaliação da resposta à terapia, já que seus níveis tendem a diminuir com a medicação apropriada (Silva e Machado, 2005; Caspi et al., 1984).

O uso de anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais tem sido amplamente pesquisado como ferramenta terapêutica na atenuação dos efeitos gerados pela SRIS (Barton, 2007; Reddy et al., 2001). Os produtos derivados do ácido araquidônico, pelas vias da cicloxigenase e lipoxigenase, como as prostaglandinas e os tromboxanos, são mediadores importantes de diversos eventos patofisiológicos que ocorrem na sepse, interferindo na evolução da resposta inflamatória e da disfunção orgânica (Carvalho e Trotta, 2003).

O firocoxib é um anti-inflamatório não-esteroidal pertencente ao grupo dos coxibes, apresentando uma seletividade para a cicloxigenase-2 aproximadamente 380 vezes maior que para a cicloxigenase-1. Após a administração oral em cães, o medicamento é rapidamente absorvido, e o tempo de concentração máxima é de  $1,25 \pm 0,85$  horas (em média, 1 hora e 15 minutos). Sua biodisponibilidade oral é de  $36,9\% \pm 20,4$ . Está aproximadamente 96% ligado às proteínas plasmáticas, sendo metabolizado por desalquilação e glucoronidação no fígado e eliminado principalmente pela bile. O volume “steady-state”, ou seja, quando o fármaco encontra-se em concentração constante no sangue, é alcançado por volta da terceira dose diária. Os estudos com esse princípio ativo são relacionados quase exclusivamente ao tratamento de doenças articulares em cães (osteoartrite, sinovite), apresentando resultados bastante satisfatórios nesses casos (Hazewinkel et al., 2008; McCann et al., 2004). Diversas pesquisas também têm demonstrado a reduzida ocorrência de efeitos adversos, sobretudo gastrintestinais e renais. Em amplo estudo realizado com 1002 cães diagnosticados com osteoartrite e submetidos ao tratamento durante 40 dias, 135 precisaram interromper o tratamento ao longo do estudo por motivos diversos, mas três deles devem ser ressaltados por estarem relacionados à segurança do medicamento: vômito (1,9%, 19/1002),

diarréia (0,6%, 6/1002) e aumento sérico da uréia (1,2%, 12/1002). Os autores explicam que os casos de vômito foram leves e transitórios e geralmente não relacionados ao tratamento (Ryan et al., 2006). Em outro estudo, em que seis cães saudáveis foram submetidos a 28 dias de tratamento, em geral não foram observadas alterações clínicas ou laboratoriais condizentes com problemas renais ou hepáticos, mas deve-se levar em conta o reduzido número de animais desse experimento. Dois cães mostraram valores aumentados de uréia ou ALT no decorrer do tratamento (Stegall et al., 2007).

Essa pesquisa teve como objetivos verificar a eficácia do anti-inflamatório não esteroidal firocoxib (Previcox®) na evolução da síndrome de resposta inflamatória sistêmica de cadelas com piometra por meio da dosagem de proteína C reativa e outros parâmetros laboratoriais.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (ANEXO 1).

### *Animais*

Foram incluídas no estudo 16 cadelas com piometra com ou sem raça definida, com idade média de 91 meses ( $\pm 38,24$ ) e peso médio de 17,7 Kg ( $\pm 11,31$ ) que foram atendidas por clínicas e hospitais veterinários colaboradores dessa pesquisa no período de janeiro a outubro de 2009. O diagnóstico de piometra baseou-se no histórico, sinais clínicos e exames complementares (ultrassonografia abdominal e hemograma). O tempo médio decorrido desde o início dos sinais (ou sua percepção



pelo proprietário) até a vinda à clínica (estimado como tempo de evolução da doença) foi de 6 dias ( $\pm 3,67$ ).

Foram incluídas no estudo apenas cadelas com SRIS e sepse. Animais em SRIS devem apresentar pelo menos dois dos seguintes parâmetros estabelecidos por Hauptman et al. (1997): 1. frequência cardíaca maior que 120 batimentos por minuto, 2. frequência respiratória maior que 20 movimentos inspiratórios por minuto, 3. temperatura retal menor que 38,1°C ou maior que 39,2°C e 4. leucograma menor que 6000 ou maior que 16000 células/ $\mu$ L. Uma vez considerados em SRIS, todos os animais estavam também em sepse, já que a sepse é a SRIS associada à infecção, que por sua vez caracteriza-se por evidências histológicas e microbiológicas ou presença óbvia de coleções purulentas/abscessos (Gebhardt et al., 2009).

Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo I, composto por 8 animais que não receberam o anti-inflamatório firocoxib e Grupo II, composto por 8 animais que receberam o anti-inflamatório firocoxib (Previcox® 227mg/57mg - Merial Saúde Animal) em dose única, por via oral, em dosagem de acordo com seu peso (5 mg/Kg), segundo recomendações do fabricante.

### *Terapia de Suporte*

Todos os animais (Grupos I e II) foram submetidos à terapia de suporte, constituída por fluidoterapia intravenosa com solução fisiológica NaCl 0,9% (calculada de acordo com o ANEXO 2, administrada em velocidade aproximada de 40 mL/Kg/hora durante a 1ª hora de hidratação), antibioticoterapia com enrofloxacin 10 mg/Kg por via subcutânea e metronidazol 30 mg/Kg por via intravenosa, administrados logo após a 1ª colheita de sangue.

### *Colheita do Sangue e Análises Clínicas*

As amostras de sangue para determinações hematológicas e bioquímicas foram coletadas da veia jugular (5 mL), respectivamente em tubos secos e com anticoagulante EDTA (ácido etileno diamina tetra acético), e então encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da UFPR. Uma alíquota de soro (0,5 a 1mL) de cada amostra foi separada em tubos Eppendorf de 1mL, e congelada a -20°C, para posteriormente ser submetida à dosagem de proteína C reativa; todas as amostras permaneceram congeladas durante o tempo máximo de 2 meses e descongeladas em temperatura ambiente momentos antes da dosagem. Cada animal foi submetido a duas colheitas, sendo a segunda realizada após 1h30min da administração das medicações, intervalo definido de acordo com o pico plasmático do firocoxib.

As análises bioquímicas (proteína total, albumina, globulina, fosfatase alcalina/ FA, aspartato aminotransferase/ AST, alanino aminotransferase/ ALT, gamaglutamil transferase/ GGT, bilirrubina, colesterol, uréia, creatinina, glicose) e hematológicas (hemograma, plaquetas, fibrinogênio, proteína plasmática total) foram realizadas utilizando-se métodos de rotina do Laboratório de Patologia Clínica da UFPR.

A proteína C reativa foi dosada no soro pelo teste PCR - Ultra-Sensível Turbidimétrico, utilizando-se kit comercial Biotécnica (Biotécnica Indústria e Comércio, Varginha, MG, Brasil), (CAT BT – 20.017.00). Partículas de látex estabilizadas e sensibilizadas com anticorpo anti-proteína C-reativa (anti-PCR) humana são aglutinadas quando a PCR está presente na amostra. A intensidade da aglutinação, medida em absorbância, está relacionada à concentração de PCR, e por comparação com um calibrador de PCR de concentração conhecida, pode-se determinar o conteúdo de PCR na amostra ensaiada. Foram misturados 0,01 mL de soro (amostra) com 1,0 mL do reagente, mistura que foi colocada no porta-cubetas

termostatizado a 37°C do espectrofotômetro (Analisador de Bioquímica QuickLab II - Drake Eletronica), que realizava duas leituras em 530 nm (absorbâncias A1 e A2) com 4 minutos de intervalo. A diferença entre as duas leituras foi multiplicada pelo fator 15,5, valor obtido a partir do seguinte cálculo: concentração do padrão (7mg/L) dividida pela diferença entre as absorbâncias A1 e A2 lidas após a mistura entre a concentração padrão e o reagente.

### *Análise Estatística*

Para a comparação das concentrações entre os Grupos I e II foi realizado o Teste-t independente, considerando um nível de significância  $\alpha = 0,05$ .

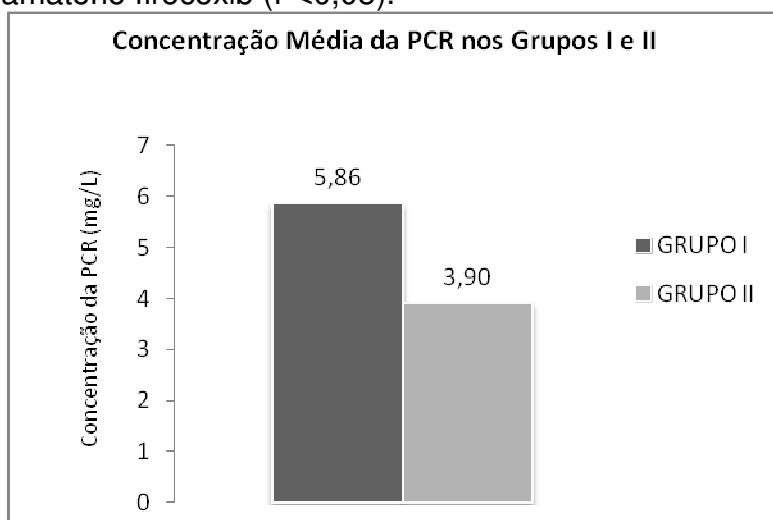
As correlações entre a PCR e demais parâmetros seu deu por meio do teste de correlação linear de Pearson, sendo considerada uma alta correlação (positiva ou negativa) a partir de  $r = 0,5$ .

Os resultados extremos obtidos a partir do cálculo da média  $\pm$  intervalo de confiança foram comparados ao valores de referência de literatura (Jain, 1993; Kaneko, 1989) para estimar se determinado parâmetro se apresentava elevado, reduzido ou dentro da normalidade.

## **RESULTADOS**

Os animais com piometra que foram tratados com o anti-inflamatório firocoxib (Grupo II) apresentaram valores de PCR significativamente menores que os não tratados (Grupo I) ( $P < 0,05$ ), decorridas 1 hora e 30 minutos da administração. A concentração média da PCR no Grupo I foi  $5,86 \pm 1,39$  mg/L, contra  $3,9 \pm 1,88$  mg/L no Grupo II (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Concentração média da proteína C reativa (PCR) entre animais com piometra tratados (Grupo II) e não tratados (Grupo I) com o anti-inflamatório firocoxib ( $P < 0,05$ ).



Não houve diferença estatística entre os dois grupos nos demais parâmetros avaliados ( $p < 0,05$ ). A exceção é a creatinina, que, no entanto, já apresentava diferença entre os dois grupos antes mesmo da administração do anti-inflamatório. Antes de qualquer intervenção, a creatinina do Grupo I era  $1,61 \pm 0,71$  mg/dL, e do Grupo II,  $0,96 \pm 0,77$  mg/dL. Após a administração das medicações nos dois grupos, a concentração encontrada foi  $1,53 \pm 0,65$  mg/dL no Grupo I e  $0,88 \pm 0,32$  mg/dL no Grupo II.

Entre a primeira e a segunda dosagem de sangue no grupo tratado (Grupo II), houve diferença significativa entre os seguintes parâmetros ( $P < 0,05$ ): albumina, proteínas totais, ALT, GGT, fibrinogênio, proteínas plasmáticas totais, leucócitos e neutrófilos bastonetes. No grupo não tratado (Grupo I), houve diferença nas proteínas plasmáticas totais e ALT (Tabela 1).

Tabela 1 – Diferença na concentração de alguns parâmetros bioquímicos e hematológicos nos Grupos I e II antes e depois do tratamento ( $P < 0,05$ ). Os dois grupos foram tratados com antibióticos (enrofloxacina e metronidazol) e hidratação com solução fisiológica (NaCl 0,9%); somente o Grupo II recebeu o anti-inflamatório firocoxib.

PARÂMETRO	ANTES	DEPOIS
	GRUPO I	
PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTAIS g/dL	7,5 ± 0,78	6,87 ± 0,7
ALT UI/L	42,63 ± 25,42	36,62 ± 25,16
	GRUPO II	
	ANTES	DEPOIS
ALBUMINA g/dL	3,31 ± 0,64	3,03 ± 0,54
PROTEÍNAS TOTAIS g/dL	6,47 ± 0,71	6,05 ± 0,41
PROTEÍNAS PLASMÁTICAS TOTAIS g/dL	8,05 ± 1,04	6,8 ± 0,75
ALT UI/L	35,13 ± 15,82	30,87 ± 14,07
GGT UI/L	8,76 ± 4,28	7,46 ± 4,47
FIBRINOGENIO g/dL	0,52 ± 0,26	0,35 ± 0,17
LEUCÓCITOS / $\mu$ L	42825 ± 32110,89	29900 ± 21760,9
BASTONETES / $\mu$ L	3676,37 ± 3631,87	2630,62 ± 3248,22

Considerando individualmente as amostras, nos animais do Grupo I o valor da PCR reduziu em 3 animais e aumentou em 5; no Grupo II, reduziu em 5, aumentou em 2 e permaneceu inalterada em 1 (Tabela 2).

Tabela 2 – Diferença na concentração da proteína C reativa em mg/L nos Grupos I e II antes e depois do tratamento. Os dois grupos foram tratados com antibióticos (enrofloxacina e metronidazol) e hidratação com solução fisiológica (NaCl 0,9%); somente o Grupo II recebeu o anti-inflamatório firocoxib.

ANIMAL	ANTES	DEPOIS	AMPLITUDE DA VARIAÇÃO
<b>GRUPO I</b>			
1	4,57	5,3	AUMENTO 1,16x
2	5,38	6,32	AUMENTO 1,17x
3	6,17	6,21	AUMENTO 1,01x
4	6,23	6,35	AUMENTO 1,02x
5	8,09	8,21	AUMENTO 1,01x
6	4,52	3,55	REDUÇÃO 1,27x
7	4,7	4,6	REDUÇÃO 1,02x
8	6,68	6,34	REDUÇÃO 1,05x
<b>GRUPO II</b>			
1	4,48	4,7	AUMENTO 1,05x
2	6,1	6,12	AUMENTO 1,00x
3	4,8	4,8	SEM ALTERAÇÃO
4	1,02	0,79	REDUÇÃO 1,29x
5	4,34	2,79	REDUÇÃO 1,56x
6	4,9	4,8	REDUÇÃO 1,02x
7	5,62	5,42	REDUÇÃO 1,04x
8	7,81	1,79	REDUÇÃO 4,36x

## DISCUSSÃO

Antes da administração de qualquer medicação, não havia diferença estatística na concentração da PCR entre os dois grupos. O grupo de animais que recebeu o anti-inflamatório firocoxib mostrou valores de PCR significativamente menores do que o grupo que não recebeu. Gebhardt et al. (2009) encontraram importante correlação entre o decréscimo da PCR em cães em SRIS ou sepse e sua recuperação; a PCR foi dosada diariamente durante três dias. Os autores também estimaram esse parâmetro como preditor de sobrevida. Entre os cães que apresentaram queda nos níveis de PCR (31/41; 76%), apenas 10% não sobreviveram e eram do grupo sepse. Os sobreviventes apresentaram um decréscimo significativo da PCR em relação ao

grupo não sobrevivente. Os autores sugerem, no entanto, que a dosagem de PCR seja associada a outros parâmetros preditores de sobrevida, além do exame clínico e parâmetros hematológicos e bioquímicos, e deixam claro que ela não é adequada quando considerada isoladamente; os autores também demonstram preferência por dosagens seriadas da PCR. Fransson et al. (2007), em estudo com cadelas com piometra, relacionaram valores elevados de PCR com a SRIS, bem como temperatura corporal e frequência cardíaca, dois parâmetros que já fazem parte da avaliação clínica de SRIS. Essa relação não foi observada com os parâmetros frequência respiratória e contagem leucocitária, pois não houve diferença entre os grupos controle e piometra. Esses resultados chamaram a atenção para os critérios clínicos utilizados para definir um animal em SRIS e demonstraram que a PCR pode ser um marcador mais específico. Além disso, seu valor elevado também foi relacionado à maior morbidade, estimada pelo maior tempo de permanência hospitalar.

A terapia antibiótica adequada pode reduzir a PCR ao longo dos dias, mas não é recomendado que a continuidade ou não do tratamento seja guiada por esse exame (Ceccon, 2008). No entanto, até o momento, nada foi publicado com relação à influência dos anti-inflamatórios sobre a atividade da PCR. Sabe-se que ela tende a diminuir conforme a resolução do quadro mórbido, independente do tipo de terapia adotada, como por exemplo, o que foi observado em cães com linfoma multicêntrico (Nielsen et al., 2007), anemia hemolítica imunomediada (Griebsch et al., 2009) e pancreatite aguda (Holm et al., 2004). A literatura oferece ainda outros exemplos de dosagens seriadas de PCR relacionadas a diversas doenças e protocolos terapêuticos, inclusive na tentativa de descobrir qual seria o tratamento mais efetivo. É o caso do estudo de Martínez-Subiela et al. (2003), que compararam dois

tratamentos para leishmaniose; os valores da PCR decresceram em ambos os casos, mas não foi possível distinguir qual foi o mais eficiente.

Em nosso estudo, a PCR foi dosada apenas duas vezes no mesmo dia, com um intervalo de 1h30min, pois o objetivo era avaliar a atuação do anti-inflamatório em questão. Apesar da brevidade desse intervalo, definido de acordo com o tempo de ação do firocoxib, foi possível observar a diferença na concentração da PCR entre os dois grupos. O fato de ambos os grupos terem sido tratados com fluido e antibióticos comprova que a redução da PCR foi orquestrada exclusivamente pelo anti-inflamatório, demonstrando seu potencial uso na terapia da SRIS/sepsse. O controle da resposta inflamatória que ocorre nessa síndrome tem papel fundamental na prevenção da evolução do quadro para falência múltipla de órgãos. A teoria “two-hit” considera que mesmo em casos menos severos de SRIS, pode haver uma evolução para falência orgânica caso a resposta inflamatória seja reativada, mesmo que por um estímulo tão pequeno quanto, por exemplo, uma infecção no local do cateter (Garrison et al., 1998).

O uso de anti-inflamatórios esteroidais e não-esteroidais foi experimentado em diversas espécies submetidas a processo séptico. Algumas evidências, como ocorrência de uma sepsse mais severa em pacientes com deficiência adrenal e uma reação inflamatória amplificada em ratos adrenalectomizados, levaram os pesquisadores a investirem em estudos relacionando a sepsse ao uso de glicocorticóides, visando estabelecer uma terapia de reposição (Annane et al., 2002; Jericó, 1999). As pesquisas são ainda mais intensas com os anti-inflamatórios não-esteroidais, e se estendem tanto aos inibidores seletivos e não seletivos para a cicloxigenase-2 (COX-2), quanto para os inibidores da lipoxigenase-5 (LOX-5), seletivos ou de dupla ação (inibem COX-2 e LOX-5) (Tabela 3).



Tabela 3 – Resultados de pesquisas realizadas em diferentes espécies submetidas a processos sépticos e tratadas com anti-inflamatórios não-esteroidais (AINE).

ANTI-				
ESPÉCIE	DESAFIO	INFLAMATÓRIO	EFEITO	REFERÊNCIA
Rato	LPS <sup>1</sup>	Indometacina <sup>4</sup> e	Atenuação da	Fisher et al.
		NS-398 <sup>5</sup>	vasoconstrição pulmonar	2000
Homem	Sepse severa	Lornoxicam <sup>4</sup>	Nenhum	Memis et al. 2004
Suíno (leitões)	Sepse	Parecoxib <sup>5</sup> e Indometacina <sup>4</sup>	Parecoxib: Redução da resistência vascular pulmonar	Nögel et al. 2009
Rato	LPS	Ketorolac <sup>6</sup> e Rofecoxib <sup>5</sup>	Ketorolac: Praticamente aboluiu o aumento da FC <sup>2</sup> e a queda da PA <sup>3</sup>	Höcherl et al. 2002
Camundongo	LPS	Zileuton <sup>7</sup> e Indometacina <sup>4</sup>	Zileuton: Prevenção da hipotermia; atenuou o aumento de leucotrienos	Singh et al. 2005
Rato e Camundongo	LPS	Zileuton <sup>7</sup>	Atenuou a disfunção hepática e, discretamente, a renal	Collin et al. 2004

1. Injeção de lipopolissacarídeos; 2. Frequência cardíaca; 3. Pressão arterial sistólica; 4. AINE não seletivo; 5. AINE seletivo para ciclooxigenase-2; 6. AINE preferencial para ciclooxigenase-1; 7. AINE seletivo para lipoxigenase-5

Além da PCR, houve diferença significativa entre os dois grupos na concentração da creatinina. Como esse parâmetro já apresentava diferença estatística entre os grupos antes mesmo da administração de qualquer medicamento ou fluido, não se pode dizer se a redução da creatinina foi devido ao uso do anti-inflamatório. Os animais foram escolhidos ao acaso para participar de um ou outro grupo, e coincidentemente animais com a creatinina mais elevada concentraram-se em um

só grupo, no caso, o Grupo I (não tratado). Após as medicações, esse grupo apenas manteve sua média mais elevada em relação ao Grupo II. Na verdade, esse erro poderia ter ocorrido também com a PCR, e poderia ser evitado com uma amostragem maior.

Os parâmetros ALT e proteínas plasmáticas totais apresentaram valores significativamente menores entre as duas dosagens nos dois grupos (I e II). Isso indica que a aplicação de antibióticos e a hidratação, procedimentos terapêuticos comuns aos dois grupos, podem ter influenciado nesses resultados, talvez pela própria hemodiluição. Já a albumina, proteínas totais, GGT, fibrinogênio, leucócitos totais e bastonetes reduziram apenas no Grupo II (tratado), indicando uma possível interferência do firocoxib sobre esses parâmetros. Considerando que a albumina, fibrinogênio, leucócitos e bastonetes são participantes da reação de fase aguda, é compreensível que possam ter sido influenciados pela ação de um anti-inflamatório. Com relação às proteínas totais e GGT, pode ter havido alguma interferência do fármaco sobre o metabolismo hepático.

Individualmente, houve grande variação com relação à resposta da PCR ao fármaco. Comparando-se a PCR antes e depois da administração do firocoxib, a maioria dos animais do grupo tratado apresentou redução desse parâmetro, ocorrendo o contrário no grupo não tratado (Grupo I). A amplitude da variação (aumento ou redução) foi semelhante entre a maioria dos animais, com exceção do animal 8 do Grupo II, que reduziu em mais de 4 vezes a concentração da PCR, indicando uma variação individual também com relação à resposta ao fármaco. Fisiologicamente, a PCR não varia durante dosagens de um mesmo cão (variações intra-individuais), mas pode apresentar valores diferentes entre os cães (variações inter-individuais), o que deve ser levado em consideração ao utilizar esse parâmetro

na avaliação de condições mórbidas (Otabe et al., 1998). Da mesma forma, a redução ou não da PCR possivelmente também pode refletir tal variação, sobretudo ao considerarmos a resposta de cada cão ao medicamento utilizado, de acordo com particularidades na absorção e biodisponibilidade do fármaco. No entanto, essa explicação se aplica apenas ao Grupo II.

Apesar de não ter sido o objetivo desse estudo avaliar a ocorrência de possíveis efeitos adversos do medicamento em questão, é importante estar ciente dos riscos inerentes à terapia anti-inflamatória. O uso dessa classe de medicamentos prévio ao procedimento cirúrgico e em pacientes desidratados ou em sepse costuma ser evitado, em virtude de seu potencial nefrotóxico. Devido à inibição das prostaglandinas, todos os anti-inflamatórios não-esteroidais oferecem algum risco de desenvolvimento de lesão renal, porém em diferentes intensidades. Os seletivos para COX-2 são apontados como sendo menos prejudiciais, sobretudo para a mucosa gástrica e rins. Essa informação, obtida a partir de estudos em humanos, não pode ser extrapolada para cães, devido a particularidades anatômicas e fisiológicas dessa espécie em relação ao homem, bem como expressão e função diferenciadas das cicloxigenases. Sendo assim, tanto os seletivos como os não-seletivos devem ser considerados potencialmente nefrotóxicos, sobretudo em períodos de hipoperfusão (Clark, 2004; Stokes e Forrester, 2004; Tasaka, 1999). A prevalência de insuficiência renal induzida pelo uso de anti-inflamatórios não-esteroidais é desconhecida, porém geralmente está relacionada com sobredosagem, uso por períodos prolongados ou uso em animais com condições predisponentes à lesão renal, como idade avançada, cardio/nefro/hepatopatias, desidratação e sepse (Clark, 2004). Apesar disso, a maioria dos animais que manifesta falência renal

aguda secundária ao uso de anti-inflamatórios não-esteroidais apresenta um prognóstico favorável (Stokes e Forrester, 2004).

É importante ressaltar, no entanto, que em nosso estudo os animais receberam o firocoxib concomitantemente à reidratação. Considerando que eram todas pacientes em sepse e com desidratação variando de leve a moderada, seria imprudente administrar tal medicação, mesmo sendo considerada segura, sem o devido suporte hidrolítico.

Futuros estudos são necessários para avaliar o comportamento a longo prazo da PCR em pacientes sépticos submetidos à terapia anti-inflamatória, correlacionando os resultados ao quadro clínico e laboratorial e investigando possíveis efeitos deletérios, sobretudo sobre a função renal.

## **CONCLUSÃO**

Considerando a queda da concentração da proteína C reativa como indicadora de boa resposta à terapia empregada, é possível concluir que o anti-inflamatório não-estroidal firocoxib (Previcox®) foi benéfico ao grupo tratado após 1 hora e 30 minutos da administração, sugerindo que o uso de anti-inflamatórios pode ser importante auxiliar na estabilização da paciente com piometra e no controle da resposta inflamatória sistêmica. É importante ressaltar que o anti-inflamatório utilizado nessa pesquisa é considerado seguro, havendo estudos demonstrando sua baixa ocorrência de efeitos colaterais. Além disso, o anti-inflamatório foi associado à reposição hidrolítica, pois os animais apresentavam-se com graus variados de desidratação. Sendo assim, o benefício aqui observado associa-se à natureza do anti-inflamatório e aos demais procedimentos terapêuticos empregados em conjunto.

## REFERÊNCIAS

ANNANE, D.; SE´BILLE, V.; CHARPENTIER, C.; BOLLAERT, P.; FRANÇOIS, B.; KORACH, J.; CAPELLIER, G.; COHEN, Y.; AZOULAY, E.; TROCHE, G.; CHAUMET-RIFFAUT, P.; BELLISSANT, E. Effect of Treatment With Low Doses of Hydrocortisone and Fludrocortisone on Mortality in Patients With Septic Shock. **JAMA – Journal of American Medical Association**. August 21, v.288, n.7, p.862-871, 2002.

ANDRIOLO, A.; COSTA, R.P.; NOVO, N.F. Pró-calcitonina e proteína C reativa em processos infecciosos graves. **Jornal Brasileiro de Patologia Médica Laboratorial**. v.40, n.3, p.169-174, 2004.

BARTON, L. Sepsis and the Systemic Inflammatory Response Syndrome. In: Fossum, T.W. **Small Animal Surgery**. 3.ed. St.Louis: Mosby, p.124, 2007.

CASPI, D.; BALTZ, M.; SNEL, F.; GRUYS, E.; NIV, D.; BATT, R. M.; MUNN, E. A.; BUTTRES, N.; PEPYS, M. B. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. **Immunology**. v.53, p.307-313, 1984.

CECCON, M.E.J.R. Novas Perspectivas na Sepse Neonatal. **Pediatrics (São Paulo)**. 30(4), p.198-202, 2008.

CERÓN, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute Phase Proteins in Dogs and Cats. **Veterinary Clinical Pathology**. v.34(2), 2005.

CLARK, T.P. The Clinical Pharmacology of Cyclooxygenase-2–Selective and Dual Inhibitors. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v.36, p.1061–1085, 2006.

COLLIN, M.; ROSSI, A.; CUZZOCREA, S.; PATEL, N.S.A.; PAOLA, R.; HADLEY, J.; COLLINO, M.; SAUTEBIN, L.; THIEMERMANN, C. Reduction of the multiple organ injury and dysfunction caused by endotoxemia in 5-lipoxygenase knockout mice and by the 5-lipoxygenase inhibitor zileuton. **Journal of Leukocyte Biology**. November, v.76, p.961-970, 2004.

DIEHL, E.E.; HAINES, G.K.; RADOSEVICH, J.A.; POTEMPA, L.A. Immunohistochemical localization of modified C-reactive protein antigen in normal vascular tissue. **American Journal of Medical Science**. v.319, n.2, p.79-83, 2000.

FISHER, L.G.; HOLLMANN, M.W.; HORSTMAN, D.J.; RICH, G.F. Cyclooxygenase Inhibitors Attenuate Bradykinin-Induced Vasoconstriction in Septic Isolated Rat Lungs. **Anesthesia and Analgesia**. v.90, p.625–631, 2000.

FRANSSON, B.A. **Systemic Inflammatory Response in Canine Pyometra – The Response to Bacterial Uterine Infection**. 2003. Uppsala, 49p. Doctoral thesis – Department of Small Animal Clinical Sciences, Swedish University of Agricultural Sciences.

FRANSSON, B.A.; LAGERSTEDT, A.S.; BERGSTROM, A.; HAGMAN, R.; PARK, J.S.; CHEW, B.P.; EVANS, M.A.; RAGLE, C.A. C-reactive protein, tumor necrosis factor  $\alpha$ , and interleukin-6 in dogs with pyometra and SIRS. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.17(4), p.373-381, 2007.

GARRISON, R.N.; SPAIN, D.A.; WILSON, M.A.; KEELEN, P.A.; HARRIS, P.D. Microvascular Changes Explain the "Two-Hit" Theory of Multiple Organ Failure. **Annals of Surgery**. v.227, n.6, p.851-860, 1998.

GRIEBSCH, C.; ARNDT, G.; RAILA, J.; SCHWEIGERT, F.J.; KOHN, B. C-reactive protein concentration in dogs with primary immune-mediated hemolytic anemia. **Veterinary Clinical Pathology**. Aceito para publicação, 2009.

HAGMAN, R.; REEZIGT, B.J.; LEDIN, H.B.; KARLSTAM, E. Blood lactate levels in 31 female dogs with pyometra. **Acta Veterinaria Scandinavica**.v.51, n.2, 2009.

HAUPTMAN J.G.; WALSHAW R.; OLIVIER N.B. Evaluation of the sensitivity and specificity of diagnostic criteria for sepsis in dogs. **Veterinary surgery**. 26:393-397, 1997

HAZEWINKEL, H.A.W.; BROM, W.E.; THEYSE, L.F.H.; POLLMEIER, M.; HANSON, P.D. Comparison of the effects of firocoxib, carprofen and vedaprofen in a sodium urate crystal induced synovitis model of arthritis in dogs. **Research in Veterinary Science**. v.84, P.74-79, 2008.

HOLM, J.L.; ROZANSKI, E.A.; FREEMAN, L.M.; WEBSTER, C.R.L. C-reactive protein concentrations in acute pancreatitis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**. v.14(3), p.183-186, 2004.

HÖCHERL, K.; DREHER, F.; KURTZ, A.; BUCHER, M. Cyclooxygenase-2 Inhibition Attenuates Lipopolysaccharide-Induced Cardiovascular Failure. **Hypertension**. v.40, December, 2002.

JERICÓ, M.M. Antiinflamatórios Esteroidais. *In*: Spinosa, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.227-237, 1999.

MANTOVANI, A.; GARLANDA, C.; DONI, A.; BOTAZZI, B. Pentraxins in Innate Immunity: From C-Reactive Protein to the Long Pentraxin PTX3. **Journal of Clinical Immunology**. n.28, p.1-13, 2008.

MARTÍNEZ-SUBIELA, S.; BERNAL, L.J.; CERÓN, J.J. Serum concentrations of acute-phase proteins in dogs with leishmaniosis during short-term treatment. **American Journal of Veterinary Research**. v.64, n.8, p.1021-1026, 2003.

McCANN, M.E.; ANDERSEN, D.R.; ZHANG, D.; BRIDEAU, C.; BLACK, W.C.; HANSON, P.D.; HICKEY, G.J. In vivo effects and in vivo efficacy of a novel cyclooxygenase-2 inhibitor in dogs with experimentally induced synovitis. **American Journal of Veterinary Research**. April, n.65, v.4, p.503-512, 2004.

MEMIS, D.; KARAMANLIOĞLU, B.; TURAN, A.; KOYUNCU, O.; PAMUKÇU, Z. Effects of lornoxicam on the physiology of severe sepsis. **Critical Care**. December, v.8, n.6, p.R474-R482, 2004.

NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, M.; OHNO, K.; KOSHINO, A.; NAKASHIMA, K.; SETOGUCHI, A.; FUJINO, Y.; TSUJIMOTO, H. C-Reactive Protein Concentration in dogs with Various Diseases. **Journal of Veterinary Medicine Science**. v.70(2), p.127-131, 2008.

NIELSEN, L.; TOFT, N.; ECKERSALL, D.; MELLOR, D.J.; MORRIS, J.S. Serum C-Reactive Protein Concentration as an Indicator of Remission Status in Dogs with Multicentric Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. v.21, p.1231-1236, 2007.

NÖGEL, S.C.; CHADA, M.; SCHMIDT, A.; BOSSELMANN, S.; KANDLER, M.; SCHWEER, H.; WATZER, B.; SCHNEIDER, H.; GESSNER, A.; RASCHER, W. Parecoxib does not suppress thromboxane synthesis in newborn piglets with group B streptococcal sepsis. **Prostaglandins and Other Lipid Mediators**. v.90, p.7-12, 2009.

OTABE, K.; SUGIMOTO, T.; JINBO, T.; HONDA, M.; KITAO, S.; HAYASHI, S.; SHIMIZU, M.; YAMAMOTO, S. Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera. **Veterinary Research Communications**. v.22(2), p.77-85, 1998.

PALTRINIERI, S. The feline acute phase reaction. **The Veterinary Journal.** v.177, p.26-35, 2008.

PARK, W.B.; LEE, K.; LEE, C.S.; JANG, H.C.; KIM, H.B.; LEE, H.; OH, M.; CHOE, K.W. Production of C-reactive protein in *Escherichia coli*-infected patients with liver dysfunction due to liver cirrhosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.** 51, p.227-230, 2005.

RULEVA, N.Y.; LYUKOVA, T.K.; TARABARKO, N.V.; KOMOLOV, I.S.; DOMOGATSKII, S.P. Structure of C-reactive protein excreted in urine during acute rejection episodes. **Bulletin of Experimental Biology and Medicine.** v.135, n.3, p.291-293, 2003.

RYAN, W.G.; MOLDAVE, K.; CARITHERS, D. Clinical effectiveness and safety of a new NSAID, firocoxib: a 1,000 dog study. **Veterinary Therapeutics.** Summer, n.7, v.2, p.119-126, 2006.

SILVA, A.V.R.; MACHADO, F.S. Procalcitonina e Proteína C Reativa como Indicadores de Sepse. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva.** v.17(3), Julho/Setembro, 2005.

SINGH, V.P.; PATIL, C.S.; KUMAR, M.; KULKARNI, S.K. Effect of 5-lipoxygenase inhibitor against lipopolysaccharide-induced hypothermia in mice. **Indian Journal of Experimental Biology.** December, v.43(12), p.1150-1155, 2005.

SMITH, F.O. Canine pyometra. **Theriogenology.** v.66, p.610-612, 2006.

STOKES, J.E.; FORRESTER, S.D. New and unusual causes of acute renal failure in dogs and cats. **Veterinary Clinics Small Animal Practice.** v.34, p.909-922, 2004.

TASAKA, A.C. Antiinflamatórios não-esteroidais. In: Spinosa, H.S.; Górnaiak, S.L.; Bernardi, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária.** 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.212-226, 1999.



## 6. CAPÍTULO 5: Apresentação de Resultados

### PROTEÍNA C REATIVA E OUTROS PARÂMETROS LABORATORIAIS EM CADELAS SAUDÁVEIS ANTES E APÓS ADMINISTRAÇÃO DE FIROCOXIB (PREVICOX®)

*(C-Reactive Protein and others Laboratory Parameters in Healthy Bitches Before and  
After Firocoxib -Previcox®- Treatment)*

**RESUMO** – A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda produzida pelo fígado, e sua concentração se eleva em condições inflamatórias. Em animais saudáveis, seu níveis mantêm-se normalmente abaixo de 5 mg/L. O firocoxib é um anti-inflamatório não esteroide, com mecanismo de ação baseado na inibição seletiva da enzima ciclooxigenase-2. É bastante utilizado no tratamento da osteoartrite canina, sendo considerado um medicamento bastante seguro para a mucosa gástrica e rins. Essa pesquisa teve por objetivo principal verificar variações da proteína C reativa e de outros parâmetros laboratoriais após a administração do firocoxib. Dezesesseis cadelas saudáveis foram submetidas a duas colheitas de sangue, com intervalo de 1h30min entre si, de acordo com o tempo de ação do fármaco pesquisado. Não houve variação na concentração da proteína C reativa entre esses dois momentos, mas foi observada grande variação individual. Com relação aos outros parâmetros, houve diferença significativa na enzima gamaglutamil transferase (redução) e no fibrinogênio (aumento). O firocoxib parece não interferir no comportamento da proteína C reativa em animais sem alterações sistêmicas, mas mais estudos devem buscar correlações entre seu uso e a fisiopatologia da coagulação.

**Palavras-chave** – proteína de fase aguda, anti-inflamatórios, inibidores da cicloxigenase-2

**ABSTRACT** – C-reactive protein is an acute phase protein produced by the liver, and its concentration rises in inflammatory conditions. In healthy animals, its levels remain generally below 5 mg / L. Firocoxib is a nonsteroidal anti-inflammatory, a mechanism of action based on the selective inhibition of the enzyme cyclooxygenase-2. It is widely used in the treatment of canine osteoarthritis and is considered a very safe drug for the gastric mucosa and kidneys. This study aimed to determine the main changes of CRP and other laboratory parameters after administration of firocoxib. Sixteen healthy dogs were submitted to two blood samples with a range of 1h30min each other, according to the time of action of the drug studied. There was no change in the concentration of C-reactive protein between these two moments, but showed a great individual variation. Regarding other parameters, there were significant differences in enzyme glutamyl transferase and fibrinogen values. Firocoxib not seem to interfere in the behavior of C-reactive protein in animals without systemic changes, but more studies should seek correlations between its use and liver protein.

**Key words** – acute phase protein, antiinflammatory drugs, COX-2 innhibitor

## INTRODUÇÃO

A proteína C reativa é sintetizada pelo fígado e seus níveis séricos aumentam em condições de danos teciduais, sob estímulo de citocinas pró-inflamatórias. Atualmente, trabalhos têm relacionado sua elevada concentração a quadros

inflamatórios e infecciosos, já que ela tende a aumentar rapidamente após a introdução do estímulo e diminuir de forma contínua em casos de resposta terapêutica favorável (Nakamura et al., 2008). Em cães saudáveis, os valores fisiológicos da PCR normalmente se mantêm menores que 5mg/L (Caspi et al., 1984), havendo, no entanto, grande variação individual (Otabe et al., 1998). Existem variadas metodologias para a dosagem da PCR, e alguns testes desenvolvidos para humanos podem ser utilizados em cães. No entanto, recomenda-se que cada laboratório estabeleça seus valores de referência de acordo com o kit utilizado e a espécie estudada.

O anti-inflamatório não-esteroidal (AINE) firocoxib apresenta mecanismo de ação baseado na inibição da ciclooxygenase-2, e é de uso exclusivamente veterinário. É bastante utilizado para tratamento da osteoartrite canina e para analgesia pós-operatória (Ryan et al., 2006; McCann et al., 2004). Não há estudos relacionando a PCR ao uso desse anti-inflamatório.

Essa pesquisa objetivou verificar variações na concentração da proteína C reativa e outros parâmetros após a administração do anti-inflamatório firocoxib.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Essa pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (ANEXO 1).

### *Animais*

Foram incluídas no estudo dezesseis cadelas saudáveis, não castradas e não gestantes, que já haviam manifestado seu 1º estro, com ou sem raça definida, com

idade média de  $28,37 \pm 21,93$  meses e peso médio de  $11,43 \pm 5,83$  Kg. Os animais foram voluntariamente trazidos por seus proprietários, que aceitaram colaborar com o estudo. Os animais foram submetidos a exame físico completo, para verificar sua higidez, e foram excluídos do estudo aqueles com histórico de doença recente, que recebiam alguma medicação ou que apresentaram resultados dos exames complementares fora dos parâmetros de normalidade. Cada animal recebeu o anti-inflamatório firocoxib (Previcox® 227mg/57mg - Merial Saúde Animal) em dose única, por via oral, em dosagem de acordo com seu peso, segundo recomendações da bula do fabricante.

#### *Colheita do Sangue e Análises Clínicas*

As amostras de sangue para determinações hematológicas e bioquímicas foram coletadas da veia jugular (5 mL), respectivamente em tubos secos e com anticoagulante EDTA (ácido etileno diamina tetra acético), e então encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da UFPR. Uma alíquota de soro (0,5 a 1mL) de cada amostra foi separada em tubos Eppendorf de 1mL, e congelada a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para posteriormente ser submetida à dosagem de proteína C reativa; todas as amostras permaneceram congeladas durante o tempo máximo de 2 meses e descongeladas em temperatura ambiente momentos antes da dosagem. Cada animal foi submetido a duas colheitas, sendo a segunda realizada após 1h30min, intervalo definido de acordo com o pico plasmático do firocoxib.

As análises bioquímicas (proteína total, albumina, globulina, fosfatase alcalina/ FA, aspartato aminotransferase/ AST, alanino aminotransferase/ ALT, gamaglutamil transferase/ GGT, bilirrubinas total, direta e indireta, colesterol, uréia, creatinina, glicose) e hematológicas (hemograma, plaquetas, fibrinogênio, proteína plasmática

total) foram realizadas utilizando-se métodos de rotina do Laboratório de Patologia Clínica da UFPR.

A proteína C reativa foi dosada no soro pelo teste PCR - Ultra-Sensível Turbidimétrico, utilizando-se kit comercial Biotécnica (Biotécnica Indústria e Comércio, Varginha, MG, Brasil), (CAT BT – 20.017.00). Partículas de látex estabilizadas e sensibilizadas com anticorpo anti-proteína C-reativa (anti-PCR) humana são aglutinadas quando a PCR está presente na amostra. A intensidade da aglutinação, medida em absorbância, está relacionada à concentração de PCR, e por comparação com um calibrador de PCR de concentração conhecida, pode-se determinar o conteúdo de PCR na amostra ensaiada. Foram misturados 0,01 mL de soro (amostra) com 1,0 mL do reagente, mistura que foi colocada no porta-cubetas termostatizado a 37°C do espectrofotômetro (Analisador de Bioquímica QuickLab II - Drake Eletronica), que realizava duas leituras em 530 nm (absorbâncias A1 e A2) com 4 minutos de intervalo. A diferença entre as duas leituras foi multiplicada pelo fator 15,5, valor obtido a partir do seguinte cálculo: concentração do padrão (7 mg/L) dividida pela diferença entre as absorbâncias A1 e A2 lidas após a mistura entre a concentração padrão e o reagente.

### *Análise Estatística*

Para a comparação das concentrações dos diversos parâmetros testados entre o período anterior e posterior à administração do anti-inflamatório, foi realizado o Teste-t independente, considerando um nível de significância  $\alpha = 0,05$ .

## RESULTADOS

A concentração de PCR não sofreu alteração após a administração do anti-inflamatório, mas a GGT e o fibrinogênio apresentaram diferença significativa entre as duas colheitas de sangue ( $p < 0,05$ ).

A média do parâmetro GGT diminuiu, de 7,37 para 5,97 UI/L, sendo que 62% dos animais apresentaram essa redução. O valor médio do fibrinogênio aumentou de 0,09 para 0,18 g/dL, acontecimento observado em 50% dos animais (Tabela 1).

Tabela 1 – Concentrações da gamaglutamil transferase (GGT) e do fibrinogênio antes e após a administração do anti-inflamatório firocoxib em cadelas saudáveis ( $P < 0,05$ ) e número de animais que apresentaram essa alteração.

PARÂMETRO	ANTES	DEPOIS	NÚMERO DE ANIMAIS
GGT UI/L	7,37 $\pm$ 3,45	5,97 $\pm$ 3,3	10/16 (62%)
FIBRINOGENIO g/dL	0,09 $\pm$ 0,24	0,18 $\pm$ 0,17	8/16 (50%)

Não foi observada diferença significativa entre as duas colheitas de sangue em mais nenhum outro parâmetro dosado.

Considerando individualmente as amostras, o valor da PCR reduziu em 10 animais, aumentou em 5 e permaneceu inalterada em 1 (Tabela 2).

Tabela 2 – Valores da proteína C reativa em mg/L antes e após a administração do anti-inflamatório firocoxib em cadelas saudáveis.

ANIMAL	ANTES	DEPOIS	AMPLITUDE DA VARIAÇÃO
1	0,015	7,23	AUMENTO 482x
2	0,015	0,06	AUMENTO 4x
3	3,38	3,64	AUMENTO <2x
4	1,52	4,18	AUMENTO 3x
5	0,17	0,21	AUMENTO <2x
6	0,93	0,031	REDUÇÃO 30x
7	0,1	0,07	REDUÇÃO <2x
8	0,21	0,06	REDUÇÃO 4x
9	0,18	0,06	REDUÇÃO 3x
10	0,28	0,01	REDUÇÃO 28x
11	1,65	0,34	REDUÇÃO 5x
12	4,81	4,75	REDUÇÃO <2x
13	0,2	0,08	REDUÇÃO 3x
14	1,25	0,37	REDUÇÃO 3x
15	2,58	1,84	REDUÇÃO <2x
16	0,57	0,57	SEM ALTERAÇÃO

O valor mais discrepante da média geral foi observado no animal 1, cuja concentração de PCR aumentou de 0,015 para 7,23 mg/L, um aumento de 482 vezes. Também houve aumento em suas enzimas hepáticas; a FA passou de 77 para 171 UI/L, a AST, de 61 para 396 UI/L, e a ALT, de 60 para 205 UI/L. O fibrinogênio foi de 0,2 para 0,4 g/dL.

Apesar de nenhum outro animal ter apresentado variação tão evidente da PCR entre as duas colheitas como o número 1, é importante notar que o comportamento (amplitude da variação) difere bastante individualmente. Enquanto alguns animais apresentaram variações (aumento ou redução) menores que 2 vezes, outros, como os de números 10 e 6, tiveram uma redução da concentração da PCR de 28 e 30 vezes, respectivamente.

## DISCUSSÃO

A concentração de PCR não sofreu alteração após a administração do anti-inflamatório, indicando que o mesmo não interfere nesse parâmetro em cadelas saudáveis, diferente do que foi observado no artigo anterior, com cadelas com piometra (Capítulo 4). Não há estudos sobre a dosagem de PCR em animais saudáveis submetidos a algum tipo de tratamento, mas Otabe et al. (1998) observaram que esse parâmetro não se alterava em cães sadios ao longo do dia ou de semanas (ausência de variações intra-individuais).

No entanto, de acordo com esse mesmo estudo (Otabe et al., 1998), notou-se que a PCR pode apresentar valores diferentes entre os cães (variações inter-individuais), e isso poderia ser extrapolado para os diferentes comportamentos com relação à amplitude da variação. A dinâmica da PCR no organismo do cão ainda não é completamente esclarecida (desconhece-se, por exemplo, sua meia vida – Cerón et al. 2005), sobretudo por ser esse um parâmetro ainda recente na medicina veterinária, do ponto de vista científico. Sendo assim, é possível que, da mesma forma que determinados animais possuem uma concentração mais elevada, outros podem responder de formas diferentes a determinadas doenças ou à administração de medicamentos.

No artigo anterior (Capítulo 4), o firocoxib também reduziu a concentração da GGT, mas em animais doentes. Esses atuais resultados, no entanto, não estão de acordo com o resultado de Steagall et al. (2007), que dosaram essa enzima antes e após a administração do firocoxib e não encontraram variação em sua concentração. Sua metodologia não foi igual à desse trabalho, uma vez que a primeira dosagem após o uso do anti-inflamatório ocorreu após sete dias de tratamento diário. Como



não foram encontrados estudos avaliando o comportamento da GGT em períodos imediatamente após a administração do fármaco, não é possível justificar esse acontecimento. Em geral, os estudos com o firocoxib relatam não haver interferência sobre atividade das enzimas hepáticas (Steagall et al., 2007). Possivelmente, esse foi um estado transitório e sem grande significado clínico, uma vez que a GGT, apesar de ter diminuído, permaneceu dentro dos valores de referência.

Sabe-se que o uso prolongado de alguns anti-inflamatórios não-esteroidais super seletivos já foi relacionado a alterações na hemostasia, aumentando o risco de trombose e infarto em humanos, o que fez com que a partir de 2004 inúmeros fármacos da classe dos coxibes fossem retirados do mercado (Clark, 2006). Isso pode justificar, ainda que sob fraco embasamento, o aumento do fibrinogênio após a administração do firocoxib. No artigo anterior (Capítulo 4), o fibrinogênio também sofreu alteração após o uso do firocoxib, mas naquele caso, reduziu, e o grupo era composto por animais doentes. É importante ressaltar que apesar do aumento entre as duas dosagens, ele ainda permaneceu dentro dos valores de referência; além disso, as plaquetas não apresentaram diferença estatística antes e após o uso do firocoxib. Para fortalecer a hipótese de uma possível interferência do firocoxib sobre os mecanismos hemostáticos, são necessários estudos voltados exclusivamente para a fisiopatologia da coagulação, que incluam a dosagem de outros parâmetros componentes da cascata. O fibrinogênio foi incluído nesse estudo por seu valor como marcador inflamatório, já que, assim como a PCR, também é uma proteína de fase aguda positiva (Vecina et al., 2006), e não foi objetivo da pesquisa verificar alterações na coagulação sanguínea secundárias ao uso de anti-inflamatórios.

No caso da cadela 1, que aumentou a PCR em 482 vezes, bem como fibrinogênio, ALT, AST e FA, pode ter havido uma reação idiossincrásica, ou seja,

uma reação peculiar de determinado paciente a um agente farmacológico, já que, como já citado, normalmente o firocoxib não afeta a atividade das enzimas hepáticas (Steagall et al., 2007). Como a PCR e o fibrinogênio são proteínas sintetizadas pelo fígado, seus valores elevados podem ter sido em consequência da administração do fármaco, que pode ter modificado o metabolismo hepático nesse animal.

Esses resultados sugerem que a administração do anti-inflamatório não-esteroidal firocoxib em cadelas saudáveis não afeta os parâmetros mais rotineiramente dosados na clínica veterinária. O aumento do fibrinogênio aqui observado deve incentivar futuras pesquisas a buscar correlações entre o firocoxib e os mecanismos de coagulação.

## **CONCLUSÃO**

A administração do anti-inflamatório não-esteroidal firocoxib em animais sem alterações sistêmicas não afetou a concentração da proteína C reativa, reduziu a gama glutamil transferase (GGT) e aumentou o fibrinogênio. Mais estudos devem buscar correlações entre seu uso e a fisiopatologia da coagulação, já que fármacos do grupo coxibe já foram relacionados a alterações hemostáticas, aumentando o risco de trombose.

## REFERÊNCIAS

CASPI, D.; BALTZ, M.; SNEL, F.; GRUYS, E.; NIV, D.; BATT, R. M.; MUNN, E. A.; BUTTRES, N.; PEPYS, M. B. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog. **Immunology**. v.53, p.307-313, 1984.

CERÓN, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute Phase Proteins in Dogs and Cats. **Veterinary Clinical Pathology**. v.34(2), 2005.

CLARK, T.P. The Clinical Pharmacology of Cyclooxygenase-2–Selective and Dual Inhibitors. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**. v.36, p.1061–1085, 2006.

McCANN, M.E.; ANDERSEN, D.R.; ZHANG, D.; BRIDEAU, C.; BLACK, W.C.; HANSON, P.D.; HICKEY, G.J. In vivo effects and in vivo efficacy of a novel cyclooxygenase-2 inhibitor in dogs with experimentally induced synovitis. **American Journal of Veterinary Research**. April, n.65, v.4, p.503-512, 2004.

NAKAMURA, M.; TAKAHASHI, M.; OHNO, K.; KOSHINO, A.; NAKASHIMA, K.; SETOGUCHI, A.; FUJINO, Y.; TSUJIMOTO, H. C-Reactive Protein Concentration in dogs with Various Diseases. **Journal of Veterinary Medicine Science**. v.70(2), p.127-131, 2008.

OTABE, K.; SUGIMOTO, T.; JINBO, T.; HONDA, M.; KITAO, S.; HAYASHI, S.; SHIMIZU, M.; YAMAMOTO, S. Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera. **Veterinary Research Communications**. v.22(2), p.77-85, 1998.

RYAN, W.G.; MOLDAVE, K.; CARITHERS, D. Clinical effectiveness and safety of a new NSAID, firocoxib: a 1,000 dog study. **Veterinary Therapeutics**. Summer, n.7, v.2, p.119-126, 2006.

STEAGALL, P.V.M.; MANTOVANI, F.B.; FERREIRA, T.H.; SALCEDO, E.S.; MOUTINHO, F.Q.; LUNA, S.P.L. Evaluation of the adverse effects of oral firocoxib in healthy dogs. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. v.30, p.218-223, 2007.

VECINA, J.F.; PATRÍCIO, R.F.; CIARLINI, P.C. Importância do Fibrinogênio Plasmático na Identificação de Processos Inflamatórios de Cães. **Ciência Veterinária nos Trópicos**. Recife-PE, Janeiro/Abril, v.9, n.1, p.31-35, 2006.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presente pesquisa buscou uma nova perspectiva com relação ao tratamento da piometra, que apesar de ser uma afecção tão comum na rotina clínica, ainda é responsável por alta morbi/ mortalidade, talvez por sua gravidade geralmente ser subestimada.

A Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica é um assunto comum entre pesquisadores da área e profissionais que buscam atualização constante, porém praticamente desconhecida para muitos que insistem em permanecer com seus antigos conhecimentos. Esse fato certamente contribui com os muitos casos de piometra que não apresentam boa resolução, seja a curto ou a longo prazo, no caso de desenvolvimento de insuficiência renal.

A medicina estuda exaustivamente novas terapias e marcadores laboratoriais para essa síndrome, e as que são consideradas eficientes, são geralmente muito caras ou inacessíveis ao clínico veterinário. Deve-se admitir que, apesar do grande avanço na medicina veterinária, demonstrado pelo crescente surgimento de centros de especialidades (hospitais veterinários), a grande parte da população ainda recorre a consultórios e clínicas veterinárias, que, salvo exceções, normalmente dispõem de recursos limitados.

Por isso a importância em pesquisar medicamentos que possam ser acessíveis à maioria. Apesar do firocoxib (Previcox®) ser um medicamento de elevado valor, ele é bastante divulgado, sendo conhecido por grande parte dos médicos veterinários. Além do mais, nosso estudo sugere uma única aplicação pré-operatória, o que não implicaria em grandes despesas, considerando-se proprietários em piores condições financeiras.

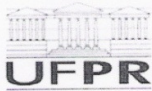
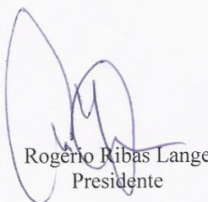
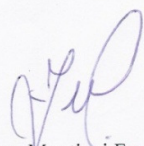
Futuras pesquisas podem vir a revelar esse mesmo efeito com outros anti-inflamatórios, o que aumentaria as opções de tratamento, tanto para o profissional como para o proprietário do animal.

Com relação à dosagem da proteína C reativa, essa ainda se restringe aos centros de pesquisa e universidades, mas certamente estudos que busquem metodologias mais baratas podem contribuir para a ampliação de seu uso.

O essencial disso tudo é estar ciente de que a associação de protocolos terapêuticos tão simples, conhecidos e acessíveis quanto a administração de fluidos, antibióticos e anti-inflamatórios, pode aumentar a sobrevida de animais que algumas vezes nos são apresentados em condições tão precárias.

## 8. ANEXOS

### ANEXO 1 – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UFPR

	<b>Universidade Federal do Paraná Setor de Ciências Agrárias Comissão de Ética no Uso de Animais – C</b>
<b>CERTIFICADO</b>	
<p>Certificamos que o protocolo no. 018/2008, referente ao projeto “Firocoxib(PREVICOX) no tratamento da Síndrome da resposta inflamatória sistêmica em cadelas com piometra”, sob a responsabilidade de Anabella Mira, na forma em que foi apresentado, foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 15 de dezembro de 2009. Este certificado expira em 15 de dezembro de 2010.</p>	
<b>CERTIFICATE</b>	
<p>We certify that the protocol number 018/2008, regarding the project “Firocoxib(PREVICOX) in the treatment of systemic inflammatory response syndrome in bitches with pyometra”, in charge of Anabella Mira, in the terms it was presented, was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on December 15, 2009. This certificate expires on December, 2010.</p>	
<p>Curitiba, 15 de dezembro de 2009.</p>	
 Rogério Ribas Lange Presidente	 Fabiano Montiani-Ferreira Vice-Presidente
<p>Comissão de Ética no Uso de Animais Setor de Ciências Agrárias Universidade Federal do Paraná.</p>	

**Observação:** A data de aprovação é posterior à realização do experimento porque o projeto precisou ser novamente avaliado em virtude de alteração de título, porém, sem alteração na metodologia, que já havia sido aprovada antes de se iniciar a parte experimental.

## **ANEXO 2 - CÁLCULO VOLUMÉTRICO A + B + C**

### **A. Necessidades hídricas referentes às perdas já ocorridas (desidratação)**

Multiplicar o grau de desidratação (vide Tabela) por 10

Multiplicar o peso corporal (PC) pelo resultado acima

### **B. Manutenção diária (necessidades fisiológicas hídricas diárias)**

Multiplicar o PC por uma das seguintes constantes, de acordo com a situação:

Animais adultos: 40

Animais jovens: 50

Animais muito jovens: 60

### **C. Perdas continuadas (vômito e diarreia)**

Multiplicar o PC por uma das seguintes constantes, de acordo com a situação:

Vômito: 40

Diarréia: 50

Vômito e diarreia: 60

**Somando-se os volumes de A+B+C, obtém-se o volume de fluido necessário por dia (24 horas)**

Exemplo: Animal de 3 anos de idade, de 12 Kg com desidratação de 8%, apresentando vômito e diarreia:

$$A) 8 \times 10 = 80$$

$$12 \times 80 = 960$$

$$B) 12 \times 40 = 480$$

$$C) 12 \times 60 = 720$$

$$A + B + C = 960 + 480 + 720 = 2160 \text{ mL por dia}$$

Tabela – Parâmetros para a estimativa clínica do grau de desidratação

<b>GRAU DE DESIDRATAÇÃO</b>	<b>PERDA APROXIMADA DE ÁGUA</b>	<b>SINAIS CLÍNICOS</b>
Inaparente	< 5%	Ausentes
Leve	5 – 6%	Diminuição sutil da elasticidade da pele
Moderado	7 – 9%	Inelasticidade da pele, mucosas secas, TPC > 3 segundos, enoftalmia, oligúria
Severo	10 – 12%	Inelasticidade acentuada da pele, mucosas secas, TPC bastante aumentado, enoftalmia severa, anúria
Choque	12 – 15%	Sinais supracitados, taquicardia, pulso fraco, estupor

TPC: tempo de preenchimento capilar

### **Velocidade de Administração**

Reposição: 60-90 mL/Kg/hora

Manutenção: 10 mL/Kg/hora